

De la vache folle à la transfusion sensée. Le risque de contamination par le prion à travers l'utilisation des produits sanguins labiles

**From mad cows to sensible blood transfusion.
The risk of transfusion transmission of the prion through
cellular blood products**

Jean-Jacques Lefrère *

Institut national de la transfusion
sanguine,
6 rue Alexandre-Cabanel,
75015 Paris,
et Laboratoire d'hématologie,
place Victor-Pauchet,
CHU d'Amiens,
80554, Amiens
<jeanjacqueslefrere@orange.fr>

Résumé. La transmission transfusionnelle du prion, agent de la maladie de Creutzfeld-Jakob, est désormais établie. Des sujets infectés par voie alimentaire peuvent donner leur sang et contaminer leurs receveurs. Les deux pays les plus touchés à ce jour par cette épidémie sont le Royaume-Uni et la France. Les premiers cas transfusionnels ont été observés au Royaume-Uni au cours des trois dernières années. En France, quelques sujets ayant développé une maladie de Creutzfeld-Jakob avaient des antécédents de don de sang, laissant présager une contamination chez leurs receveurs, dont certains pourraient se trouver aujourd'hui en phase d'incubation de la maladie. En l'absence de test diagnostique utilisable sur de grandes séries, il est impossible de faire la part de l'étendue de l'épidémie chez les donneurs de sang et chez les transfusés. Cette carence empêche également de recourir à un dépistage spécifique des dons de sang infectés. La prévention repose donc aujourd'hui essentiellement sur un ensemble de mesures d'exclusion de donneurs considérés comme à risque. Le prion étant présent à la fois dans les leucocytes et dans le plasma, la déleucocytation est une mesure insuffisante pour combattre efficacement le risque. Si l'absence d'un test utilisable pour la qualification biologique des dons persiste, des filtres spécifiques du prion, récemment développés, constitueront sans doute un recours. Enfin, si la diffusion de l'épidémie d'origine alimentaire paraît aujourd'hui efficacement contrôlée, l'incertitude est grande sur l'ampleur de la diffusion du prion par voie transfusionnelle.

Mots clés : prion, maladie de Creutzfeld-Jakob, encéphalopathie spongiforme bovine, sécurité transfusionnelle

Abstract. The transfusion transmission of the prion, agent of Creutzfeld-JaKob disease, is now established. Subjects infected through food may transmit the disease through blood donations. The two nations most affected to date by this threat are the United Kingdom and France. The first transfusion cases were seen in the United Kingdom over the last three years. In France, a few cases having developed Creutzfeld-Jakob had a history as blood donors, leading to a contamination in the recipients, some could be incubating the disease. In the absence of a large-scale diagnostic test, it is impossible to establish the spread of the epidemic in the blood donor population and the transfused patients. This lack of test also prevents specific screening of infected blood donations. Thus, prevention essentially

Tirés à part :
J.-J. Lefrère

relies today on a deferral of at risk individuals. The prion being present both in leucocytes and plasma, white cell reduction is insufficient to reduce efficiently the transfusion risk. In the absence of a test for the screening of blood donations, recently developed prion-specific filters could be a solution. Furthermore, while the spread of the epidemic through food seems efficiently controlled, uncertainty remains as to extent of the spread of the prion through blood transfusion.

Key words: prion, Creutzfeld-Jakob disease, bovine spongiform encephalopathy, transfusion safety

Les maladies liées aux « agents transmissibles non conventionnels » (ATNC) ne datent pas de la dernière fin de siècle. L'existence de la « tremblante du mouton » (la *scrapie* des Anglo-Saxons) est attestée depuis plus d'un quart de millénaire, mais dans ces temps anciens, l'Humanité n'ayant pas acquis la possibilité d'outrepasser les « barrières d'espèces », seuls les moutons et les chèvres se trouvaient atteints ou menacés. La transmissibilité de ces agents infectieux fut initialement démontrée en 1938 par deux vétérinaires français qui pratiquèrent, sur des moutons sains, l'injection intracérébrale d'un broyat de cerveau provenant d'un animal ayant contracté une tremblante par voie naturelle [1].

Cependant, le premier cas de la pathologie entré dans l'Histoire sous le nom de « maladie de la vache folle » ne date que de 1985. Il fut observé au Royaume-Uni [2], où le phénomène se répandit vite : en 2001, près de 180 000 animaux avaient été touchés par cette « encéphalopathie spongiforme bovine » (ESB), avec un pic de plus de 37 000 cas au cours de l'année 1992. En France, l'année du tournant du siècle, près de 300 cas bovins étaient attestés, dont le premier avait été signalé dès 1994. Cette épidémie animale franco-britannique était une conséquence désastreuse et directe de ce qui avait été considéré à l'époque comme un progrès dans l'industrialisation et la mondialisation des chaînes alimentaires. Car l'ESB est bel et bien apparue à la suite de l'alimentation des bovins par des farines de viandes et d'os préparées à partir de résidus d'abattoirs et d'équarrissages, qui incluaient parfois des carcasses de moutons morts de tremblante ou d'ovins victimes d'une forme sporadique d'ESB (on ne sait toujours pas aujourd'hui si le point de départ de l'épidémie fut une carcasse de mouton mort de tremblante ou une carcasse de bovin mort d'ESB sporadique). On estime aujourd'hui que près de deux millions de bovins infectés entrèrent dans la chaîne alimentaire humaine au Royaume-Uni [3, 4]. L'utilisation de ces farines de complémentation alimentaire d'origine animale, qui créaient une fracture dans la « barrière d'espèce » — les vaches n'étant pas carnivores de nature — fut interdite en 1988 au Royaume-Uni, et en 1994 en France. Mais le mal était fait, et le 20 mars 1996, le Ministère de la santé britannique annonçait que l'agent de l'ESB était transmissible à l'homme. Une nouvelle pathologie

humaine fit jour cette année-là : une forme inconnue de maladie de Creutzfeld-Jakob (MCJ), transmise par un nouveau variant du prion, agent de la MCJ « classique ».

Caractéristiques et mode d'action des prions

Il est désormais établi que l'agent de la maladie est ce qui a été désigné sous le nom de « prion » (pour *PRoteinaceous Infectiosity ONLY*). Car, à la différence des autres agents transmissibles par le sang, un prion ne comporte pas d'acides nucléiques, il est de composition purement protéique, sans enveloppe ni membrane, et utilise la machinerie cellulaire pour se repliquer [5, 6]. La découverte d'un tel agent infectieux — le plus petit et à coup sûr le plus mystérieux connu à ce jour — valut à son inventeur, l'américain Stanley Prusiner, à la fois le prix Nobel de médecine en 1998 et un scepticisme de plusieurs années de la part de la communauté scientifique internationale. Aujourd'hui, ce scepticisme a laissé place à une adhésion à peu près générale.

Le prion « normal » ou PrP^c (PrP pour *proteinaceous particle*) est une protéine de 30 à 35 kilodaltons, codée par le gène PrP. Cette protéine est exprimée à la membrane des cellules de nombreux tissus, mais son taux le plus élevé se situe au niveau des neurones du cerveau. Sensible à l'action des protéases et donc dégradé par des enzymes protéolytiques, le PrP^c a une demi-vie courte, de l'ordre de quelques heures. Le rôle exact de cette glycoprotéine de surface est assez mal connu. Une hypothèse est qu'elle jouerait un rôle dans le transport ou le métabolisme du cuivre, dont elle fixe quatre atomes [7], mais sa fonction doit avoir son importance, si l'on en juge par son haut niveau de conservation parmi les mammifères [8]. Une étude récente lui attribue un rôle dans l'autorenouvellement des progéniteurs hématopoïétiques [9]. Tout en ayant une séquence en acides aminés identique à celle de la forme PrP^c, l'agent de l'ESB est un prion de conformation différente, désigné sous l'abréviation de PrP^{Sc} (« sc » pour *scrapie*). Ce prion dérive de l'isoforme de la protéine normale (que l'on appelle souvent, non sans quelque abus de langage, le « prion normal ») par une modification structurale post-translacionnelle et une conversion riche en feuillets beta-plissés : si le PrP^c contient environ 40 %

d'hélices alpha et 3 % de feuillets beta, le PrP^{sc} contient environ 30 % d'hélices alpha et 45 % de feuillets beta [10]. La structure tridimensionnelle de la forme pathologique est ainsi différente de celle de la forme normale. Les arcanes et le siège de cette transformation conformationnelle en une forme plus riche en feuillets beta sont mal connus, mais il est certain que le prion anormal doit son accumulation à sa tendance à l'agrégation et surtout à sa résistance (d'où son autre appellation de « PrP^{res} ») aux enzymes protéolytiques, notamment la protéinase K, résistance qui est directement liée à cette conformation différente, majoritaire en feuillets beta-plissés [11]. Le prion lui-même joue un rôle de cofacteur (« chaperon ») dans ce changement de conformation : chez le sujet sain, la

protéine normale induit, auprès des autres molécules de PrP, une conformation nouvelle qui leur confère leur fonctionnalité. Chez le sujet infecté, la PrP^{sc} induit, auprès des molécules de PrP natives, une conformation qui leur confère au contraire leur caractère pathologique, et le phénomène se propage en s'amplifiant (figure 1) : la protéine anormale transforme en formes pathologiques les protéines avec lesquelles elle entre en contact, et l'effet se développe en chaîne [12]. Il s'agit là d'une accumulation véritablement « spécifique » de prions anormaux, car s'effectuant sans intervention des ARN messagers. L'organisme accumule ses propres formes pathologiques de prion et n'« amplifie » pas uniquement celle qui l'a contaminé.

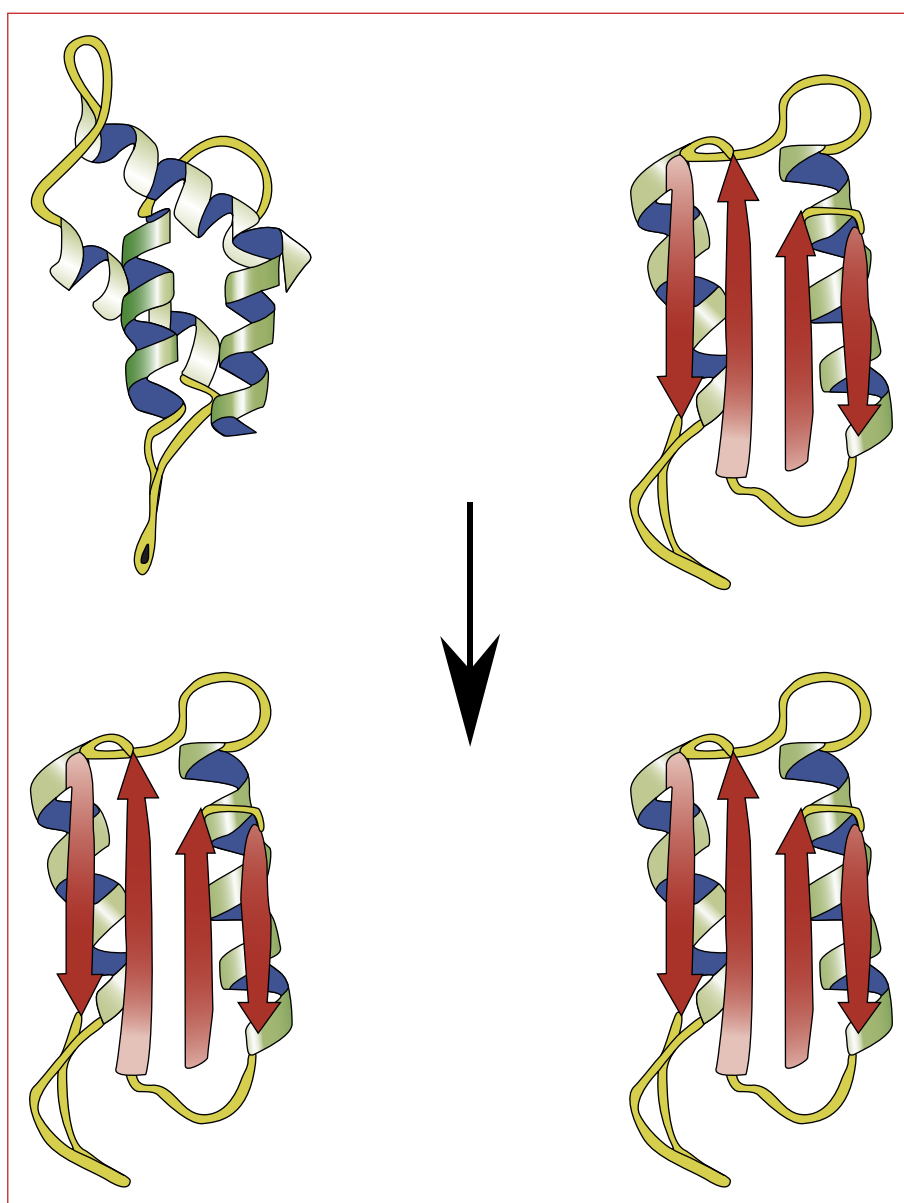


Figure 1. Transformation de la forme PrP^c (normale) en forme PrP^{sc} (pathologique). Cette dernière induit, auprès des molécules de PrP^c natives, une conformation qui leur confère leur caractère pathologique, et le phénomène se propage en s'amplifiant.

Aujourd'hui admise, cette hypothèse d'une transmission de l'infection par contact entre deux protéines, l'une pathologique et l'autre normale, avait été initialement proposée en 1967 [13, 14] dans le contexte de la tremblante du mouton, puis reprise et développée par Prusiner en 1982 [12].

Comme il s'agit de l'accumulation d'une protéine présente à l'état naturel dans l'organisme, la réponse immunitaire ne semble pas et n'a pas lieu de s'exercer : il n'y a donc pas de production d'anticorps dirigés contre la forme anormale (ce qui interdit tout développement d'un test fondé sur la détection de tels anticorps), ni de réponse immune cellulaire spécifique, ni même de réaction inflammatoire locale ou générale détectable : la maladie est une « encéphalopathie » et non une « encéphalite ».

L'accumulation des prions anormaux entraîne une autodestruction des cellules nerveuses, et cette destruction en masse, tout en libérant de nouveaux prions pathologiques allant infecter les neurones voisins, génère des vacuoles dans le tissu cérébral, lui conférant à la longue un aspect spongieux, d'où le nom d'encéphalopathie « spongiforme ».

Les pathologies liées aux infections par les « agents transmissibles non conventionnels »

Il existe plusieurs types de maladies à prion [15]. Ces pathologies dégénératives du système nerveux central, également appelées « encéphalopathies subaiguës spongiformes transmissibles » (ESST), peuvent toucher l'animal ou l'homme, et dans la circonstance que l'on a vue, l'animal *puis* l'homme. Une de leurs caractéristiques est de survenir après une longue période d'incubation [16], mais d'être rapidement évolutives une fois les premiers symptômes cliniques apparus et, dans tous les cas, fatales. Dans l'espèce animale, nous avons mentionné la tremblante du mouton et de la chèvre, l'ESB ou « maladie de la vache folle », mais il existe aussi, entre autres, la maladie du dépérissement chronique des ruminants sauvages (cerf, élan, daim, chevreuil), l'encéphalopathie du vison, l'encéphalopathie spongiforme féline (dont l'agent est le même que celui de l'ESB), etc. Au sein de l'espèce humaine, on distingue, suivant leur origine, trois types de pathologies [17] :

- les maladies idiopathiques : la forme sporadique de la MCJ (sMCJ) et l'insomnie fatale sporadique ;
- les maladies génétiques, avec la forme familiale de la MCJ (fMCJ), le très rare syndrome de Gerstmann-Strausler-Scheinker et la non moins rare insomnie fatale familiale ;
- les maladies acquises, pouvant être d'origine humaine (le kuru de Nouvelle-Guinée, lié à des pratiques anthropophages [18] ; la forme iatrogène de la MCJ) ou d'origine bovine (le variant de la MCJ).

Les formes étiologiques de MCJ qui apparaissent dans cette classification diffèrent sur les plans cliniques et moléculaires :

- décrite en 1920-1921 [19, 20], la forme « classique » de MCJ, qui demeure encore aujourd'hui la plus fréquente, est la forme sporadique (sMCJ). Inhabituelle avant l'âge de 40 ans, elle connaît son pic d'incidence après la septième décennie, la moyenne d'âge aux premiers symptômes étant de 62 ans. Son incidence annuelle est de l'ordre de 1 à 1,5 cas par million d'habitants (soit moins d'une centaine de cas par an en France), et chez les sujets ayant passé la soixantaine, d'environ 5 cas par million [21]. Après une incubation de plusieurs décennies, elle se manifeste en quelques semaines par l'apparition de troubles neurologiques dominés par les troubles cognitifs et comportementaux évoluant vers un syndrome démentiel, et de troubles de la sphère motrice (perte de l'équilibre, myoclonies, tremblements, signes extrapyramidaux, cérébelleux). L'évolution est mortelle en quelques mois, et il n'existe aucun traitement curatif. Le diagnostic de certitude est posthume, par l'examen anatomopathologique du cerveau, lequel montre la présence de prions anormaux et la destruction de cellules nerveuses. Cette forme de la maladie, qui est associée à un prion pathologique, est d'étiologie inconnue. Elle survient probablement à la suite d'une modification conformationnelle spontanée (ou en tout cas de mode de déclenchement inconnu) de la PrP en PrP^{sc}, suivie du phénomène de propagation par contiguïté décrit précédemment ;

- la forme familiale (fMCJ), transmise sur le mode autosomique dominant, est associée à des mutations, des délétions ou des insertions au niveau du gène qui code pour la protéine prion ;

- le prion pathologique étant caractérisé par une résistance à la plupart des modes de décontamination physico-chimiques usuels [22], une forme iatrogène existe (ou a existé), avec des contaminations interhumaines liées à des modes variés, comme l'utilisation de matériel de neurochirurgie contaminé (6 cas), des greffes de cornée (2 cas), de dure-mère (près de 200 cas), de tympan (1 cas) et, dans les années 1980, à la suite de l'injection intramusculaire d'hormone de croissance hypophysaire d'origine extractive, prélevée sur des cadavres (près de 200 cas), et même celle d'hormone gonadotrophine (4 cas) [23, 24] ;

- le variant de la MCJ (vMCJ) est observé chez les sujets contaminés par l'agent de l'ESB à travers l'ingestion de bœuf contaminé [25, 26]. La vMCJ a la particularité d'être la seule maladie humaine à prion acquise à partir d'une autre espèce (le gène de la protéine prion est ici sans anomalie). Les premiers cas en furent décrits en 1996, à travers une série de 10 malades anglais, par le « National Creutzfeldt-Jakob Disease Surveillance » d'Édimbourg [27]. L'étude électrophorétique montra que la protéine constituant ce variant différait du profil rencontré dans les formes classiques de la MCJ, mais correspondait à celui observé dans l'épidémie bovine. La vMCJ s'est surtout manifestée, jusqu'ici, chez l'adulte de moins de 40 ans (l'âge moyen en début de maladie étant de 28 ans). La symptomatologie est assez uniforme, à la fois psychiatrique et comportementale, en tout

cas avec des caractéristiques particulières par rapport aux autres formes de MCJ, ce qui contribua à son identification : une moyenne d'âge contrastant avec celle de la forme sporadique, dont le temps d'incubation se compte en décennies et non en années ; des manifestations psychiatriques précoces, et des signes sensoriels à type de douleur précédant les signes neurologiques de plusieurs mois. L'évolution est mortelle — sous forme d'une démence associée à des manifestations neurologiques — en 14 mois en moyenne, c'est-à-dire plus lentement que la forme sporadique, dont la survie est généralement inférieure à 6 mois [28]. L'imagerie par résonance magnétique nucléaire (IRM) montre des hypersignaux situés, de manière évocatrice, dans la partie postérieure des thalami (« signe du pulvinar » bilatéral [29]). La biopsie des amygdales, utile quand les symptômes sont compatibles avec un diagnostic de vMCJ en l'absence de signe du pulvinar, révèle la présence de la forme PrP^{sc} sur des coupes histologiques par immunocytochimie ou par migration de la protéine sur western-blot (un résultat amygdalien négatif n'infirmait cependant pas le diagnostic de manière catégorique). L'anatomopathologie, seule aujourd'hui à porter le diagnostic de certitude, montre, à côté des signes classiques de MCJ, des plaques amyloïdes constituées de formes PrP^{sc} et entourées de bulles de spongioses, appelées « plaques florides » et correspondant à l'action vacuolisante du prion anormal [30]. Cette forme de maladie est spécifiquement associée à un prion pathologique d'un type dont la distribution dans l'organisme est plus large que dans les autres formes de MCJ. Car le prion pathologique des cas de vMCJ est un isoforme distinct des deux principaux isoformes observés dans la sMCJ, qui sont de type 1 et 2A [31].

À la différence des autres maladies humaines à prion, notamment la sMCJ, dans laquelle l'accumulation de la protéine anormale se fait dans le système nerveux central sans accumulation périphérique satellite, la vMCJ procède par un envahissement, par le prion anormal, du système nerveux central et de diverses parties de l'organisme, qu'il s'agisse du système nerveux périphérique ou d'autres tissus, notamment lymphoïdes [32, 33]. Dans les modèles expérimentaux, le prion pathologique se décèle d'abord dans les cellules folliculaires dendritiques, puis au niveau du système nerveux central [34]. Dans la vMCJ, il a été mis en évidence pour la première fois dans les amygdales, parmi divers organes autopsiés [35], puis dans nombre d'éléments du système lymphoïde, comme les ganglions intestinaux, la rate, et le thymus [36-39]. La mise en évidence de la PrP^{sc} dans des biopsies amygdaliennes est devenue un test diagnostique en faveur d'une vMCJ, car cette protéine anormale n'est pas décelable dans les amygdales de sujets atteints de sMCJ ou d'autres maladies humaines à prion [38]. La PrP^{sc} a été également détectée dans les centres lymphoïdes germinatifs de résidus appendiculaires chez des sujets qui développèrent une vMCJ quelques mois ou années après l'intervention chirurgicale [40, 41], ainsi que dans des ganglions neuroaux du système nerveux périphérique [36, 42].

Le codon 129 du gène de la protéine prion (dit « gène PRNP »)

Le gène du prion humain est situé sur le bras court du chromosome 20 et code pour 254 acides aminés, dont une valine (V) ou une méthionine (M) en position 129. Avec ses deux copies du gène, un individu peut être MM (39 % de la population générale), MV (50 %) ou VV (11 %). Ce polymorphisme est capital pour la genèse de la maladie liée au variant, car il existe, pour l'infection à prion, une susceptibilité de l'hôte liée à un déterminisme génétique, et ceci est un point commun avec certains agents transmissibles « conventionnels » tels que le virus de l'immunodéficience humaine (VIH).

L'homozygotie MM au codon 129 du gène de la protéine prion apparaît liée à la fois à la susceptibilité, à l'expression clinique du portage, et au temps d'incubation de la maladie : tous les cas de vMCJ observés au Royaume-Uni ont été, jusqu'à présent, des individus MM, du moins chaque fois que la nature du codon 129 a pu être déterminée, c'est-à-dire dans la majorité des cas [43], sauf un cas d'origine transfusionnelle dont nous reparlerons et qui était de génotype MV, mais ce dernier décéda d'une autre cause, sans avoir développé la symptomatologie classique d'une vMCJ.

Cette influence de la nature du codon 129 a été documentée à travers l'étude de souris génétiquement modifiées pour exprimer la version humaine homozygote du prion normal, c'est-à-dire devenues de génotype MM ou VV : lorsqu'elles furent infectées par le prion de l'ESB ou par celui de la vMCJ, il fut démontré que le délai d'apparition de la maladie était fortement influencé par le génotype, les souris MM développant la maladie de manière plus précoce, suivies des souris hétérozygotes MV, puis des souris homozygotes VV [39, 44, 45]. Tout se passe comme si la PrP avec une méthionine en position 129 était plus efficacement transformable en protéine anormale que la PrP avec une valine en cette position.

Dans l'espèce humaine, le génotype MV et peut-être encore plus le génotype VV semblent induire un effet « protecteur » contre l'apparition de la maladie, et cet effet paraît durable : ceci reste vrai, du moins tant qu'aucun cas clinique de vMCJ n'a été rapporté chez un sujet MV ou VV. La question se pose dès lors : cette plus longue incubation chez ces derniers excède-t-elle la durée d'une vie humaine ? Dans l'affirmative, ils ne développeraient jamais la maladie même en étant porteurs du prion pathologique. Dans la négative, une vague retardée de vMCJ, liée à l'émergence de formes symptomatiques chez des individus non MM, pourrait apparaître au cours des prochaines décennies.

Le *tableau 1*, fondé sur des données épidémiologiques européennes [46, 47], illustre cette influence du codon 129 du gène PRNP sur le développement des différentes formes de MCJ.

Il apparaît ainsi que, sur la forme sporadique de la MCJ, le génotype a une influence moins tranchée que dans la vMCJ [31, 47, 48]. Cette influence génétique s'observe cependant

Tableau 1
Influence du codon 129 sur le développement
des différentes formes de MCJ

	MM (%)	MV (%)	VV (%)
Population caucasienne	39	50	11
Cas de sMCJ	71	13	16
Cas de vMCJ déclarés	100		

aussi dans le kuru, autre maladie à prion acquise par voie alimentaire mais, si l'on peut dire, sans franchissement de la barrière d'espèce (dans cette forme de cannibalisme funéraire rituel, jadis pratiqué en secret par des Papous des régions montagneuses de Nouvelle-Guinée, où — juste distribution des besoins ? — le cerveau de la victime était mangé par les femmes et les enfants, le muscle étant réservé aux consommateurs de sexe masculin) : le codon 129 exerce, avec ce mode de contamination, une influence majeure sur la période d'incubation de la maladie, qui est plus longue chez les hétérozygotes MV [16, 49-51]. Cependant, dans le kuru comme dans la sMCJ, ainsi que dans la forme iatrogène [52], des cas symptomatiques sont survenus chez des sujets hétérozygotes MV ou homozygotes VV. Cela reste — du moins avec le faible recul de temps écoulé depuis l'apparition de l'épidémie — une particularité de la vMCJ, de n'avoir jamais occasionné une forme symptomatique chez un sujet de génotype non MM.

Épidémiologie de la vMCJ au Royaume-Uni, en France et sur le reste de la planète

Les premiers cas de vMCJ au Royaume-Uni et en France furent observés la même année : 1996. Outre-Manche, un total cumulé de 165 cas était déclaré en juin 2007, effectif représentant à ce jour la majorité des cas répertoriés au niveau mondial. La moyenne d'âge de ces 165 sujets était de 28 ans (extrêmes : 12-74 ans), avec une légère prédominance masculine. La durée moyenne de la maladie était de 14 mois (extrêmes : 6-40 mois). Tous les sujets dont le génotype avait été déterminé étaient homozygotes MM. Des études épidémiologiques confirmèrent que l'origine la plus vraisemblable de ces cas était alimentaire, bien que d'autres modes ne pouvaient être toujours formellement exclus, comme une exposition professionnelle chez quelques sujets [53].

En France, l'incidence de la vMCJ a été proportionnelle à l'exposition alimentaire aux produits bovins contaminés par l'agent de l'ESB, que la contamination ait eu lieu lors de séjours au Royaume-Uni ou en métropole par ingestion de viandes importées de ce pays, cette dernière circonstance apparaissant d'ailleurs en cause dans une large majorité des cas observés [54]. L'importation en France des viandes

contaminées augmenta régulièrement de 1985 à 1995 (la France était le principal importateur de viande britannique, qui constituait près de 10 % de la consommation en viande bovine du pays), tandis que la consommation de ces viandes diminuait durant la même période dans le pays producteur [55]. Cependant, le niveau d'exposition français est aujourd'hui considéré, selon les estimations [54, 56, 57], comme 10 à 20 fois inférieur à celui du Royaume-Uni, la consommation de bœuf contaminé ayant été largement supérieure dans le pays producteur. Une différence temporelle fut également constatée : la comparaison du nombre de cas français et britanniques, en considérant l'année du début de la symptomatologie de chaque patient, indiquait en effet une incidence maximale des cas français retardée de 5 ans par rapport à celle du Royaume-Uni, où le nombre de cas enregistrés baisse régulièrement depuis 1999 [58]. Ce décalage temporel de l'épidémie apparaissait directement en relation avec celui de l'exposition de la population générale (figure 2).

Au début de 2007, en France, 21 cas avaient été déclarés depuis 1996 : la moyenne d'âge était de 37 ans (soit un peu plus que la moyenne des cas anglais, plus proche de la trentaine), avec des extrêmes de 19 et 59 ans, et un sex-ratio équilibré (9 hommes et 11 femmes). Les caractéristiques cliniques, génétiques et anatomopathologiques des patients français étaient tout à fait comparables à celles des patients britanniques. La durée moyenne de la phase symptomatique était de 15 mois (extrêmes : 8-24 mois). Tous les sujets analysés étaient homozygotes MM, et aucune notion de traitement par l'hormone de croissance, aucun antécédent neurochirurgical, ni aucun facteur de risque pour les autres formes connues de MCJ ne fut retrouvé. Aucun n'exerçait une activité professionnelle le mettant en contact avec des bovins, et il n'existait pas, au niveau national, de déséquilibre géographique suggérant un quelconque *cluster* [58]. De brefs séjours au Royaume-Uni, inférieurs à une dizaine de jours, furent attestés chez trois malades, mais un quatrième avait séjourné à plusieurs reprises, et pour de longues périodes, en Angleterre, entre 1987 et 1996.

Dans les autres pays, les cas de vMCJ sont demeurés tout à fait exceptionnels : 4 en Irlande (le premier en 1999) ; 2 aux États-Unis (le premier en 2002) ; 1 au Canada (2002), 1 en Italie (2002), 1 en Arabie-Saoudite (2004), 1 en Espagne (2005) ; 2 aux Pays-Bas (2005), 1 au Portugal (2005), 1 au Japon (2005) et 1 à Hong Kong (2005). Un séjour au Royaume-Uni, de durée très variable selon les observations, fut parfois noté : 68 mois de séjour pour un cas irlandais ; deux séjours de plusieurs mois pour un cas américain, pour le sujet Canadien et pour celui de Hong Kong ; un séjour d'un mois pour le cas japonais. Le séjour le plus bref était celui du patient d'Arabie-Saoudite : une seule journée, ce qui rend plus qu'incertain, en l'occurrence, l'origine de la contamination.

En 2007, le nombre d'observations de vMCJ rapportées au niveau planétaire demeure ainsi relativement limité, avec un

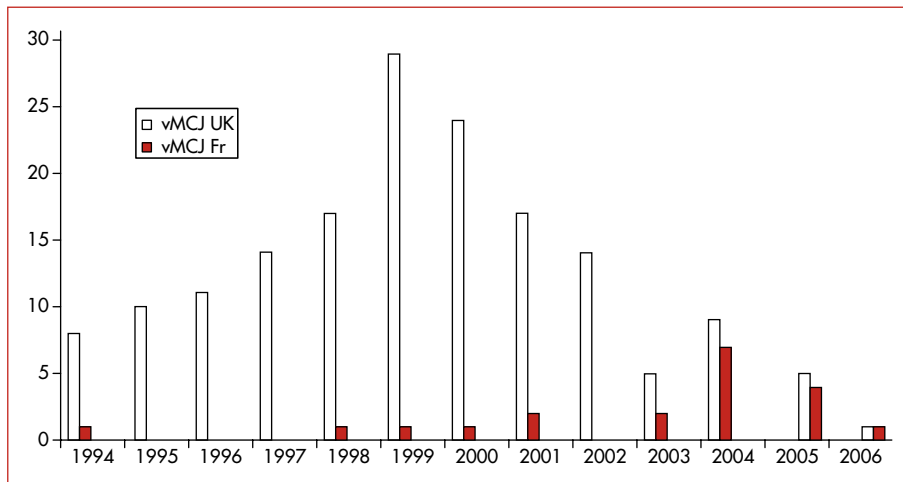


Figure 2. Évolution temporelle du nombre de cas de vMCJ au Royaume-Uni et en France par année de début de la maladie (d'après [97]).

total de 201 cas, principalement signalés au Royaume-Uni (165 cas) et en France (21 cas).

Évolution et prédictions de l'épidémie du variant de la MCJ

En 2000, en se fondant sur une période d'incubation comprise entre 30 et 60 ans, une prévision de 150 à 6 000 cas symptomatiques de vMCJ fut avancée pour le Royaume-Uni [59]. D'autres études annonçaient des chiffres totalement alarmistes, avec des centaines de milliers de victimes à attendre au cours des décennies à venir [60, 61]. Il apparaît aujourd'hui que l'épidémie est en régression dans ce pays depuis 2000, conséquence des mesures mises en place pour mettre un terme à l'épidémie « mère » d'ESB, avec un nombre de cas de plus en plus bas chaque année depuis cette date [62, 63].

Une étude britannique rétrospective réalisée dans deux centres (Plymouth et Edimbourg), à la recherche du prion anormal au niveau amygdalien ou appendiculaire postopératoire, auprès de 12 674 sujets situés en majorité dans la tranche 10-30 ans, opérés entre 1995 et 1999, révéla 3 cas d'infection asymptomatique [41] : cette proportion, certes établie avec les aléas d'une approche rétrospective, apparaît plus élevée que le suggérait le nombre de cas de vMCJ déclarés dans la population générale. Ceci donne à penser que ces derniers pourraient représenter les situations d'incubation les plus courtes, et/ou que les cas de portage asymptomatique du prion pathologique sont plus nombreux qu'on l'a estimé. Par ailleurs, 2 de ces 3 sujets asymptomatiques étaient homozygotes VV et donc à faible risque de développer une MCJ dans un intervalle de temps rapproché [64], et il est logique que les cas symptomatiques identifiés à ce jour correspondent à une forme d'incubation particulièrement courte. À partir de ces résultats, fut avancée une prévalence de 237 cas par million de citoyens britanniques, avec un

intervalle de confiance à 95 % de 49-792 : dans l'hypothèse la plus pessimiste, c'est-à-dire en prenant en compte la borne supérieure de cet intervalle, 41 250 sujets parmi 60 millions seraient infectés. À ce jour, les derniers chiffres de l'épidémie de vMCJ au Royaume-Uni s'avèrent cependant bien plus en accord avec les prédictions *a minima* des épidémiologistes, d'autant qu'elle décline régulièrement, nous l'avons vu, en nombre annuel de cas. On note cependant qu'en dépit du temps écoulé depuis l'instauration des mesures prises contre l'épidémie de BSE décimant les troupeaux anglais, l'âge moyen des patients au moment de l'apparition des symptômes cliniques de vMCJ n'a pas augmenté notablement depuis l'émergence des premiers cas, constatation qui, n'a pas encore trouvé d'explication rationnelle.

En France, où le niveau d'exposition aurait donc été de 10 à 20 fois inférieur à celui du Royaume-Uni, des chiffres de 6 à 300 cas de vMCJ au cours des 60 prochaines années ont été proposés dans une estimation [54], de 205 cas dans une autre étude [65]. En 2003, un modèle de prédiction de l'incidence suggérait un nombre total de 33 cas (extrêmes : 0-100), avec 14 cas (extrêmes : 2-30) sur la période 2004-2005, et 11 cas (extrêmes : 1-20) sur la période 2006-2010 [55]. Ces données se révèlent pour l'instant totalement compatibles avec les plus récentes observations épidémiologiques. Une étude prédictive plus récente annonçait 39 cas supplémentaires (extrêmes : 6-99), aucun n'étant d'ailleurs lié à un séjour au Royaume-Uni [57]. Il n'en demeure pas moins que le *worst case scenario* de 300 cas au cours des 60 prochaines années est maintenu dans les estimations sur le risque d'extension de l'épidémie, en particulier pour estimer la prévalence de l'infection dans la population des donneurs de sang.

En tout état de cause, les mesures prises contre l'extension de l'épidémie d'origine alimentaire (avec notamment le dépistage biologique systématique de l'agent de l'ESB chez les bovins destinés à la boucherie et l'élimination de la chaîne

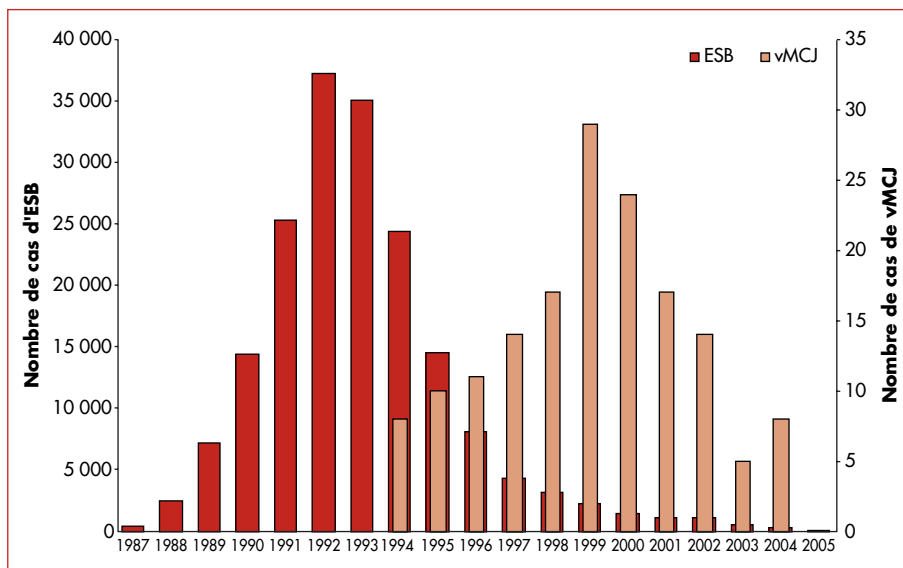


Figure 3. Évolution du nombre de cas d'ESB et de vMCJ au Royaume-Uni sur la période 1987-2005.

alimentaire des animaux trouvés positifs) et les dernières constatations épidémiologiques suggèrent qu'une pandémie de vMCJ est peu vraisemblable au cours des prochaines années. En réalité, le problème tient désormais plutôt dans d'autres modes de contamination, avec des vecteurs sanguins ou tissulaires : la transfusion, la greffe de tissus et d'organes, l'utilisation de matériel médical ou chirurgical contaminé. Le premier mode, surtout, était redouté en raison de son ampleur potentielle : alors que la contamination alimentaire, qui a dominé jusqu'ici, semble aujourd'hui contrôlée (comme l'indique, de manière spectaculaire, la courbe d'évolution du nombre de cas d'ESB au cours des 20 dernières années [figure 3]), la transmission transfusionnelle va-t-elle prendre le relais ? Au Royaume-Uni comme en France, si le prion ne circule plus dans la viande bovine, il est présent dans le sang de quelques sujets asymptomatiques, donneurs de sang potentiels, et pourrait être transmissible à travers lui. La crainte d'une transmission interhumaine a ainsi pris le pas sur la peur — devenue un temps une hantise dans la population générale où les végétariens se sont un temps multipliés sur un mode prionique — de la transmission interspèces.

Bases expérimentales de la transmission du variant de la MCJ par voie sanguine

Jusqu'en 1996 environ, il était généralement admis que la MCJ n'était pas un élément de risque transfusionnel : quelques études, certes limitées, n'avaient relevé aucune association entre la survenue de la forme sporadique et un passé transfusionnel [66-68]. Étant donné que le taux de prion semble considérablement plus élevé dans la vMCJ que dans

la sMCJ, on a supposé que le nombre de particules infectieuses dans le sang et/ou la distribution de ces particules dans l'organisme d'un sujet atteint de MCJ « classique » pouvait être trop faible pour induire une contamination à travers un don de sang, à l'encontre, comme on le verra, de la vMCJ. En outre, à la différence de cette dernière, le prion pathologique n'est pas observé dans les formations lymphoïdes des MCJ sporadiques.

Ainsi, avant l'émergence des premiers cas de vMCJ, les deux principales circonstances de transmission du prion au sein de l'espèce humaine avaient été le kuru et la contamination iatrogène après injection intramusculaire d'hormone de croissance d'origine hypophysaire. Or, le kuru ne s'observait plus en raison de la prohibition, en 1957, des pratiques anthropophagiques rituelles en Nouvelle-Guinée, et le recours exclusif aux hormones de croissance d'origine recombinante avait mis un terme aux contaminations iatrogènes. Pourtant, bien qu'aucun cas de vMCJ par voie transfusionnelle n'ait encore été observé, la possibilité d'une transmission par le sang se trouvait évoquée avec insistance [69-71], mais le prion de la vMCJ n'entra pas immédiatement dans la famille de plus en plus nombreuse des « agents transmissibles par le sang ».

Dans des modèles expérimentaux, l'atteinte des tissus lymphoïdes avait été observée rapidement après la contamination par le prion anormal, avec une persistance, tout au long de la période d'incubation [34]. La diffusion lymphoïde pouvant s'effectuer par l'intermédiaire des cellules circulantes, cette hypothèse a conduit à celle que les lymphocytes porteurs de la forme anormale du prion pourraient le transmettre à des receveurs de produits sanguins labiles (PSL) contenant de tels lymphocytes [72, 73]. L'injection intracérébrale de *buffy coats* et de plasmas provenant de sujets atteints de vMCJ à des souris n'avait pas mis en évidence une telle

transmissibilité [33], mais ces expériences portaient sur un petit nombre d'échantillons d'origine sanguine, et la sensibilité de la technique utilisée pouvait être insuffisante pour détecter un taux faible de la forme PrP^{sc}. Par la suite, la transmissibilité sanguine des maladies à prion fut montrée chez des rongeurs [74], notamment sur des souris rendues vulnérables à la vMCJ [75]. Mais le tournant décisif fut la réalisation d'expériences visant à démontrer la transmissibilité sanguine d'un ATNC d'un mouton infecté expérimentalement par voie orale à un mouton sain [76]. Une telle expérimentation, qui impliquait d'importantes quantités de sang et une distribution du prion anormal hors du système nerveux central comparable à celle de la vMCJ chez l'homme établit avec certitude que la protéine pathologique était présente dans le sang circulant, notamment dans les cellules lymphoïdes, et que le vecteur sanguin était tout à fait à même de transmettre l'agent de la maladie : l'infectiosité sanguine était dès lors démontrée, du moins dans certaines conditions, et les Autorités de santé françaises, par mesure de précaution, considèrent dès lors comme possible la transmission transfusionnelle de l'agent de la vMCJ.

Dans une autre expérience animale, la transfusion d'un sang provenant d'un mouton infecté (symptomatique ou asymptomatique) à un mouton sain a conduit à des taux de contaminations transfusionnelles de 17 % pour l'ESB et de 19 % pour la scrapie [77]. Un tel modèle présentait l'avantage de permettre l'étude de la part de chaque composant sanguin dans la transmissibilité d'un ATNC et d'apprécier l'effet de mesures visant à combattre cette transmissibilité, telle que la leucoréduction. Une autre expérimentation animale, plus récente, fut fondée sur la détection sanguine, au cours d'une grande partie du stade asymptomatique de l'infection, de la PrP^{sc} chez des hamsters contaminés expérimentalement par l'agent de la scrapie à travers l'inoculation intrapéritonéale de tissu cérébral infecté [78]. Dans les deux cas, l'étude montra que l'agent infectieux était présent dans le sang circulant au cours d'une grande partie de la phase d'incubation de la maladie, et que le taux de transmission était relativement élevé.

Alors qu'aucun cas transfusionnel humain n'avait encore été rapporté (tout au moins pour les premières de ces expérimentations), ces études chez l'animal avaient mis en évidence la transmissibilité sanguine du prion pathologique, l'efficacité de la voie veineuse et la possibilité d'une incubation courte par cette voie.

Surveillance du risque transfusionnel du variant de la MCJ au Royaume-Uni

Les premières études épidémiologiques anglo-saxonnes n'avaient pas relevé la transfusion comme mode de transmission de l'agent de la vMCJ, et les premières descriptions de la répartition du prion anormal au sein de l'organisme avaient fait considérer la voie sanguine comme un vecteur assez

improbable de contamination. Par la suite, les expériences de transmission sanguine de l'agent de l'ESB chez le mouton et la constatation d'une distribution plus large de la PrP^{sc} dans l'organisme du sujet infecté par le variant que chez le sujet atteint de sMCJ [36] firent reconsidérer ce jugement.

En 1990, le Royaume-Uni, pays le plus exposé du globe pour ce risque, mit en place, sur la totalité de son territoire, un système de surveillance appelé le « National Creutzfeldt-Jakob Disease Surveillance Unit » ou NCJDSU, chargé de repérer et d'identifier l'ensemble des cas de MCJ [79, 80]. Toutes les observations suspectes devaient être rapportées par les professionnels de santé impliqués (principalement des neurologues et des neuro-anatomopathologistes), puis authentifiées et catégorisées selon des critères diagnostiques définis. Sur le plan transfusionnel, le passé médical de chaque malade était étudié à travers un entretien avec l'entourage familial, à la recherche d'antécédents de transfusion ou de dons de sang. Une étude collaborative entre le NCJDSU et le réseau transfusionnel anglais, appelée TMER (pour *Transfusion Medicine Epidemiology Review*), rechercha ainsi, en remontant jusqu'en 1997, tous les cas transfusionnels potentiels de MCJ, à partir de malades atteints de sMCJ ou de fMCJ ayant autrefois donné ou reçu du sang, et à partir de malades ayant développé une vMCJ et assez âgés pour avoir donné leur sang au cours des dernières années. Au 1^{er} mars 2006, parmi les 160 cas anglais rapportés de vMCJ, 150 avaient l'âge de donner leur sang et, parmi eux, 31 (21 %) avaient, du moins selon leur entourage, donné leur sang au moins une fois [81]. Les dates et lieux du ou des dons une fois déterminés, des épidémiologistes se penchèrent sur ce qu'il était advenu de ces dons, qu'ils aient été utilisés pour l'élaboration de PSL ou de médicaments dérivés du sang (MDS), et sur le statut actuel des receveurs de ces produits. Ces enquêtes aboutirent dans 24 cas : 18 sujets atteints de vMCJ ayant donné leur sang (sur les 31 connus comme anciens donateurs), avec 66 receveurs identifiés, dont 24 étaient encore vivants ; 3 sujets atteints de sMCJ ayant donné leur sang (sur 93 connus comme anciens donateurs), avec 20 receveurs identifiés ; 3 sujets atteints de fMCJ ayant donné leur sang (sur 5 connus comme anciens donateurs), avec 11 receveurs identifiés. Parmi les 97 receveurs, 2 avaient développé la maladie et appartenaient au premier groupe : celui exposé au risque de vMCJ.

Les premiers cas anglais de vMCJ chez des receveurs de produits sanguins labiles

Les premiers « cas transfusionnels » observés, qui sont au nombre de 4 à ce jour (2007), correspondent tous à des patients transfusés au Royaume-Uni avec des PSL non déleucocytés. Il s'agissait chaque fois de vMCJ, et non de sMCJ ou de fMCJ, aucun cas transfusionnel de ces deux dernières formes n'ayant jamais été décrit, même à travers des enquêtes rétrospectives ou des études de cas-contrôles [82-86], et

aucune infectiosité n'ayant été retrouvée dans le sang à travers des expérimentations animales, même avec des souris transgéniques rendues sensibles à la maladie (on ne saurait pour autant exclure formellement que quelques cas transfusionnels de vMCJ, en raison de leur caractère exceptionnel et d'une incubation particulièrement longue, soient passés inaperçus).

Le premier des 4 patients transfusés atteints de vMCJ était un homme de 62 ans, qui développa la maladie en 2002 et mourut un an plus tard. En 1996, il avait reçu, dans un service de chirurgie, 5 concentrés globulaires non déleucocytés, dont l'un provenait d'un donneur de 24 ans qui développa une vMCJ en 1999 (et décéda l'année suivante). Donneur et receveur étaient l'un et l'autre homozygotes MM. Une origine alimentaire ne pouvait certes être totalement écartée dans un cas comme dans l'autre, mais la transfusion était l'explication de loin la plus plausible, moins en raison de l'âge du receveur, pourtant largement supérieur à la moyenne des sujets contaminés par voie alimentaire, que par la conjonction de deux pathologies des plus rares : le calcul statistique montra que la possibilité que ces deux observations de vMCJ soient de survenue indépendante l'une de l'autre était de l'ordre de 1/15 000 (et même de 1/30 000 en prenant en compte l'âge du receveur). Ce premier cas transfusionnel mondial fut rapporté en décembre 2003 [87]. Le deuxième cas était un homme de 77 ans, décédé d'une maladie cardiaque sans avoir développé de signes cliniques de vMCJ, mais un stade asymptomatique d'infection par le Pr^{PSC} fut évoqué sur les données anatomopathologiques *post-mortem*, qui montrèrent la présence de prion anormal, non dans le cerveau, mais dans certains éléments lymphoïdes (la rate et les ganglions cervicaux, mais non les amygdales et l'appendice). Ce patient était suivi et considéré comme à risque car, cinq ans plus tôt, en 1999, il avait reçu un concentré globulaire non déleucocyté provenant d'un donneur de 40 ans, mort de vMCJ 18 mois après le don, avec, au niveau de la rate, un Pr^{PSC} d'isoforme identique à celui observé dans les cas de vMCJ. Le donneur était de génotype MM, mais le receveur était hétérozygote MV, ce qui pouvait être mis en relation avec le caractère asymptomatique de son statut de porteur du variant. Ce deuxième cas de contamination transfusionnelle fut rapporté en juillet 2004 [88].

Le troisième cas, qui faisait lui aussi partie de la cohorte des receveurs suivis pour avoir été transfusés avec un PSL à risque, était un homme de 31 ans ayant reçu du sang lors d'une intervention chirurgicale fortement hémorragique : il développa une vMCJ en 2005, 7 ans après l'épisode transfusionnel, et mourut deux ans et demi plus tard. Il avait reçu un concentré globulaire non déleucocyté provenant d'un donneur qui présenta une vMCJ en 1999 (18 mois après le don) et décéda l'année suivante (21 mois après le don). Donneur et receveur étaient homozygotes MM. Ce troisième cas transfusionnel fut rapporté en 2006 [81, 89, 90].

Le quatrième et dernier cas recensé à ce jour était un receveur qui développa une vMCJ huit ans et demi après avoir été

transfusé par un concentré globulaire provenant d'un sujet ayant présenté une vMCJ 17 mois après le don. Ce donneur était le même que celui en cause dans le cas n° 3. De génotype MM, le receveur était encore en vie dans les premiers mois de 2007 [91].

Ces observations rapportées par la presse spécialisée (puis non spécialisée) firent successivement passer le risque transfusionnel de vMCJ de « peu vraisemblable » à « possible », puis de « probable » à « démontré ». Car si nombre d'inconnues demeurent quant aux paramètres du risque de contamination sanguine par le prion, le rapprochement du taux très faible de vMCJ dans la population générale, estimé, à l'échelon individuel, entre 1/15 000 et 1/30 000 au Royaume-Uni [87], et du taux élevé de cas dans le petit groupe de receveurs à risque rend quasi certaine une origine transfusionnelle et non alimentaire (sans compter qu'une proportion notable de ces receveurs à risque est décédée sans avoir vécu assez longtemps pour développer une éventuelle vMCJ). Le cumul de ces cas conforte ainsi la possibilité que le sang d'un donneur dans la phase asymptomatique de la maladie soit contaminant pour le receveur. Cette évidence soudaine de la transmissibilité transfusionnelle du variant de la MCJ justifiait ainsi largement les mesures préventives précédemment appliquées au Royaume-Uni et en France. De surcroît, malgré le petit nombre de cas transfusionnels rapportés, plusieurs constatations pouvaient d'ores et déjà être dégagées :

- la possibilité d'une incubation relativement courte avec la voie transfusionnelle : six ans et demi entre la transfusion et le début des signes cliniques dans le cas n° 1, six ans dans le n° 3, huit ans et demi dans le n° 4, même si, au vu, précisément, de ces tout premiers cas, la période d'incubation moyenne doit être supérieure à huit ans, fut-ce avec le contexte d'un génotype MM. Quoiqu'il en soit, la brève durée d'incubation de ces premières observations transfusionnelles montre la pleine efficacité de la voie sanguine. Doit-elle suggérer un caractère particulièrement pathogène du prion anormal circulant dans le sang et transmis par cette voie, même s'il est établi que la contamination au sein d'une même espèce s'accompagne d'ordinaire d'une incubation plus courte que dans la transmission interspécies. En effet, les périodes d'incubation les plus courtes ont été rapportées, au sein des ATNC humains, dans le kuru, dans les formes iatrogènes après injection d'hormone de croissance [23, 92] et dans les vMCJ transfusionnelles [16] ;

- le taux de transmission, au sein de la population des receveurs à risque, est élevé, même s'il n'apparaît pas comme une constante dans ce délai relativement court. Une actualisation de l'étude TMER du Royaume-Uni aboutissait en 2006 aux effectifs suivants, qui constituent une indication précieuse sur le risque transfusionnel de la vMCJ et sur la durée d'incubation des premiers cas observés [93] : parmi 66 receveurs de PSL issus de donneurs ayant développé ultérieurement la maladie, 34 étaient morts dans les 5 premières années de la période post-transfusionnelle, avec une

cause de décès liée à la maladie préexistante. Parmi les 32 restants, 24 étaient encore en vie et n'avaient pas développé de vMCJ, tandis que 8 étaient décédés au-delà des 5 premières années post-transfusionnelles. Parmi ces 8, 5 étaient morts d'une pathologie non liée au variant, et 3 avaient développé une vMCJ (qui avait été la cause du décès dans 2 des 3 cas) ;

– l'influence du génotype du codon 129 n'est pas infirmée dans le contexte de la voie sanguine : le seul receveur resté asymptomatique était hétérozygote MV (encore que la période observationnelle était cependant la plus courte de la série) ;

– tous les receveurs avaient reçu du sang non déleucocyté, entre 1996 et 1999 (la leucoréduction ne fut systématisée au Royaume-Uni qu'en octobre 1999) ;

– les 3 premiers receveurs avaient été transfusés par des PSL provenant respectivement de 3, 4 et 103 donneurs. Ces 103 derniers donneurs correspondaient eux-mêmes à plus de 3 000 receveurs, dont statistiquement plus d'un millier doivent être encore en vie ;

– en Angleterre comme en France, aucun cas de vMCJ n'a été rapporté chez un receveur de MDS (comme l'indique le titre de cet article, nous limitons ici notre propos aux produits sanguins labiles, en sachant que des procédés complémentaires contribuent à la sécurité des MDS vis-à-vis du prion, procédés sur lesquels nous renvoyons le lecteur aux données de la littérature [94-97]).

Surveillance du risque transfusionnel en France : premières observations de vMCJ avec antécédents de dons de sang, et premières mesures prises à l'égard des receveurs

Si les enquêtes épidémiologiques conduites en France n'ont pas révélé d'antécédent transfusionnel pendant la période « à risque » dans la vingtaine d'observations de vMCJ répertoriées dans le pays (un sujet avait été transfusé, mais en 1971, avant l'épidémie), quelques patients avaient été en revanche donneurs de sang, comme cela était prévisible, au cours de la même période.

En 1992, il fut créé en France un réseau national de surveillance des cas de MCJ, coordonné par l'Unité INSERM U708 et incluant des représentants de diverses spécialités médicales et des services de santé : neurologues, neuropathologistes, laboratoires de référence, Institut de Veille Sanitaire (InVS), DDASS. La mission de ce réseau était de recueillir et de valider les cas suspectés de MCJ, de suivre leur évolution, de les classer selon le type (sporadique, familial, iatrogène) et le degré de certitude (en distinguant cas confirmés et cas probables), et d'établir leurs caractéristiques épidémiologiques. En cas d'antécédent de don de sang, l'InVS était chargé d'informer l'Établissement Français du Sang (EFS) pour ouverture d'une enquête transfusionnelle. Il

apparut ainsi que 3 des patients Français atteints de vMCJ, qui avaient développé la maladie en 2004, avaient un passé de donneur de sang.

– Le premier (huitième de la série, rapporté en février 2004) était une femme de 32 ans ayant donné son sang entre 1993 et 2003. Les PSL élaborés avec ces dons étaient 13 concentrés globulaires (dont 10 avaient été déleucocytés) et un concentré plaquettaire. Parmi les receveurs, 14, dont 5 étaient encore en vie, furent identifiés et localisés. Dix plasmas provenant de la même donneuse avaient été utilisés pour la fabrication de MDS.

– Le deuxième cas (neuvième de la série, rapporté en avril 2004) était un homme de 52 ans ayant donné son sang depuis 1984, notamment entre 1996 et 2002 (il n'y eut pas d'enquête pour les dons effectués avant l'épidémie). Les PSL étaient 5 concentrés globulaires (tous déleucocytés) et 3 concentrés plaquettaires (dont 2 déleucocytés). Pour les dons faits depuis 1994, sept receveurs de PSL, dont 2 étaient encore vivants et non perdus de vue, furent identifiés. Douze plasmas avaient été utilisés pour le fractionnement.

– Le troisième cas (treizième de la série, rapporté en octobre 2004) était un homme de 48 ans ayant donné son sang entre 1991 et 2004. Les PSL étaient un plasma frais congelé et 15 concentrés globulaires (dont la moitié avait été déleucocytée). Seize receveurs étaient impliqués, dont 6 étaient encore vivants et non perdus de vue.

Au total, ces trois donneurs correspondaient à 42 receveurs de concentrés globulaires ou plaquettaires, dont 17 étaient encore en vie au moment de l'enquête : parmi ces derniers, 2, transfusés avant 1984, ne furent pas informés, mais 14 le furent parce qu'ils avaient reçu les transfusions entre 1991 et 2004. À ce jour, aucun n'a présenté de symptomatologie pouvant évoquer une vMCJ.

Le nombre de receveurs était évidemment de beaucoup plus important pour les MDS provenant des plasmas de ces donneurs. Car 2 de ces derniers avaient donné du plasma destiné au fractionnement sur la période 1991-2004 (10 dons dans un cas, 12 dans l'autre). À eux seuls, ils totalisaient environ 50 000 receveurs : 2 000 pour des traitements au long cours (hémophilie, déficits immunitaires), les autres pour des injections occasionnelles (albumine, immunoglobulines).

Eu égard à ces trois premières observations de donneurs de sang ayant développé ultérieurement une vMCJ, les mesures suivantes furent prises :

– retrait immédiat des MDS et des PSL issus des dons de ces sujets lorsqu'ils étaient encore accessibles (lorsque la maladie fut découverte chez le donneur, les PSL avaient presque toujours été transfusés, mais cette stratégie permit les deux actions qui suivent) ;

– information des prescripteurs des PSL impliqués dans l'enquête transfusionnelle ;

– information directe, personnelle et médicalisée des receveurs de PSL (sauf pour les patients transfusés avant l'épidémie), exclusion définitive de ces receveurs de tout don d'orga-

nes, de tissus et de cellules (ils étaient déjà écartés du don de sang en tant qu'anciens transfusés) ; enfin, mise en place d'un suivi clinique au long cours ;

- décision de ne pas informer individuellement les receveurs de MDS, sauf les hémophiles ayant reçu des concentrés de facteur VIII ou IX provenant des dons en cause ;
- information maîtrisée de la population générale et des professionnels de santé sur la possibilité de contamination transfusionnelle par l'agent de la vMCJ.

L'information donnée aux receveurs de PSL par leur médecin s'est effectuée dans des conditions qui auraient probablement gagné à davantage de structuration, car une telle information était tout aussi difficile, si ce n'est plus, que celle qui dut être donnée, il y a plus de 20 ans, aux premiers donneurs de sang découverts « LAV positifs », et qui était déjà délicate en raison du grand nombre d'incertitudes de l'époque sur le pronostic de l'infection par l'agent responsable du Sida. Il convient toutefois de préciser que, touchant cette possibilité de contamination transfusionnelle par le prion, la non-information elle-même n'était pas dépourvue de partisans, qui avançaient les arguments suivants : un risque absolument non quantifiable, de par les nombreux paramètres inconnus et l'absence de test diagnostique ; l'existence de mesures préventives appliquées depuis plusieurs années pour combattre le risque lié à la transfusion de PSL ; la nuisance psychologique majeure d'une telle annonce, qui ne pouvait que générer une anxiété majeure ; l'absence de tout élément diagnostique et pronostique (sauf le statut du codon 129) ; enfin, l'absence de toute possibilité thérapeutique préventive ou curative. Le 4 novembre 2004, le Comité consultatif national d'éthique (CCNE) renouvela sa position exprimée en 1997 : ne pas inquiéter sans bénéfice, notamment sans recours possible à une action préventive ; risquer d'exclure un patient du système de soins au nom du principe de précaution. Enfin, le CCNE insista sur la nécessité d'une traçabilité optimale des dons de sang issus de donneurs ayant développé par la suite une vMCJ.

Cependant, en faveur de l'information des receveurs à risque plaiderait, non tant la nécessité de ne plus donner de sang (en principe, en tant que transfusés, ces sujets étaient exclus définitivement du don), que le « droit du patient à l'information », imposé par la loi du 4 mars 2002, laquelle entraîne l'obligation, pour le médecin, d'avertir son patient de tout « risque nouveau identifié », même si ce risque n'est pas quantifiable à l'échelon individuel comme à l'échelon collectif, même s'il n'existe aucun moyen diagnostique et aucun moyen absolu de prévention. D'autres éléments firent pencher pour l'information aux receveurs : la nécessité d'une prévention du risque secondaire (personnel de santé, dentistes), d'autant que la circulaire 138 du 14 mars 2001, qui définit les grands principes de gestion du risque de transmission des ATNC lors des soins médicaux ou chirurgicaux, avait classé les receveurs de PSL dans la catégorie des patients à risque individuel de contamination par l'agent de la vMCJ.

Mesures directes ou indirectes de prévention vis-à-vis des donneurs et des produits sanguins labiles

Si l'on met à part le retrait des produits bovins infectieux de la chaîne alimentaire, mesure de santé publique prise pour protéger la population générale, les actions préventives du risque de contamination transfusionnelle par un ATNC furent instaurées au Royaume-Uni et en France au fur et à mesure de la progression des connaissances épidémiologiques. Certaines avaient cependant été mises en place avant même l'émergence des premiers cas de vMCJ, afin de prévenir la transmission d'autres formes de MCJ, en particulier les iatrogènes. La notion d'une transmission transfusionnelle du variant, à la suite des cas rapportés par les Services sanitaires britanniques, incita ensuite les Autorités de santé à prendre des mesures préventives supplémentaires.

Il n'en demeure pas moins que, pour aussi complémentaires que soient lesdites mesures, il n'est nullement certain à ce jour qu'elles suffisent pour annuler tout danger de transmission du prion par les produits sanguins labiles. Il est probable qu'à côté de l'exclusion des donneurs à risque, une des préventions les plus contributives a été la systématisation de la leucoréduction [98], dont il fut montré qu'elle diminue presque de moitié l'infectiosité du sang total [99]. On pouvait craindre que cette dernière technique ait une conséquence opposée à l'effet escompté, en entraînant une lyse leucocytaire à même de libérer dans le plasma de nombreux prions infectieux, mais rien, à ce jour, n'est venu remettre en cause le bénéfice apporté par la leucoréduction.

Malgré tout, si les cas de contamination transfusionnelle de vMCJ observés Outre-Manche apparurent tous liés à des PSL non déleucocytés, il faut tenir compte du fait que le recul est par définition moindre pour les PSL traités par leucoréduction, et surtout qu'il est désormais établi que la couche leucocytaire n'a pas l'apanage de l'infectiosité : une infectiosité équivalente existe, nous le verrons, dans le plasma. La leucoréduction apparaît donc comme une mesure nécessaire [100], mais certainement pas suffisante.

Voici, dans leur instauration chronologique, les mesures transfusionnelles préventives, spécifiques ou non spécifiques, mises en place de chaque côté de la Manche contre le risque de contamination transfusionnelle par l'agent de la vMCJ. Au Royaume-Uni [101, 102] :

- 1997 : rappel et destruction des PSL et des MDS issus de donneurs ayant développé une vMCJ ;
- 1998 : importation des États-Unis du plasma destiné au fractionnement ;
- 1999 : leucoréduction systématique des produits sanguins labiles ;
- 2002 : importation du plasma frais congelé pour les receveurs nés à compter du 1^{er} janvier 1996 ;

- 2004 : exclusion définitive des donneurs ayant été transfusés après le 1^{er} janvier 1980 ;
- 2005 : importation du plasma frais congelé pour les receveurs âgés de moins de 16 ans ;
- 2005 : exclusion définitive des donneurs transfusés à n'importe quelle date ;
- 2005 : exclusion définitive et information des donneurs dont les produits ont été transfusés à des receveurs ayant développé ultérieurement la maladie ;
- 2005 : abandon progressif des plaquettes poolées au profit des dons de plaquettes en aphérèse par un seul donneur.

En France, la prévention transfusionnelle repose de la même manière sur un ensemble d'actions complémentaires. La circulaire n° DGS/SD5C/DHOS/2005/435 du 23 septembre 2005 [103] a été conçue à la suite de la constatation des premiers cas anglais de transmission transfusionnelle probable du variant et des premiers cas français de donneurs de sang ayant développé la maladie. Elle a pris en compte la notion de risque de transmission interhumaine par transfusion de PSL ou par utilisation de matériel chirurgical ou endoscopique chez des patients ayant reçu des PSL issus de donneurs ayant développé une MCJ. Les mesures successivement instaurées en France, en incluant celles prises pour les autres formes de MCJ, avant l'émergence de la vMCJ, furent les suivantes :

- 1992-1995 : exclusion définitive des donneurs traités par l'hormone hypophysaire extractive ; exclusion définitive des donneurs ayant un antécédent familial de maladie neurodégénérative ; rappel et destruction des PSL et des lots contenant le plasma d'un donneur ayant développé ultérieurement une MCJ sporadique, familiale ou iatrogène, ou ayant un antécédent génétique de MCJ, ou ayant été traité par l'hormone de croissance extractive ; exclusion définitive des donneurs ayant un antécédent d'intervention neurochirurgicale ;
- 1997 : recherche des receveurs de PSL issus de dons de sujets ayant développé la maladie ;
- 1997 : exclusion définitive de donneurs ayant un antécédent de transfusion ou de greffe ;
- 1997 : rappel et destruction des PSL et des lots issus d'un donneur ayant développé une vMCJ ;
- 1998 : leucoréduction des produits cellulaires pour obtenir un taux résiduel $< 1 \times 10^6$ /unité ;
- 2000 : exclusion définitive des donneurs ayant séjourné au Royaume-Uni plus d'une année cumulée au cours de la période 1980-1996 ;
- 2001 : leucoréduction de tous les plasmas (plasma frais congelé ou plasma destiné au fractionnement) pour un taux résiduel $< 1 \times 10^6$ /unité ;
- 2001 : taux leucocytaire résiduel ramené à 1×10^4 /unité pour les seuls plasmas homologues à usage thérapeutique ;
- 2001 : réduction du volume plasmatique des concentrés plaquettaires par une solution additive afin de réduire une charge infectieuse éventuellement présente ;

- 2001 : information des prescripteurs, des patients et des donneurs.

Il est certain que la majorité des individus porteurs du variant en France ne se considère pas comme à risque et peut donner son sang. Ceci est d'autant plus préoccupant que les sujets touchés jusqu'ici par la vMCJ sont relativement jeunes, avec une moyenne d'âge à la trentaine, et donc tout à fait à même de donner leur sang pendant deux ou trois décennies. Dans ces conditions, la seule prévention spécifique de la contamination transfusionnelle par le prion ne pourra reposer que sur un test diagnostique de qualification des dons, ou sur une mesure générale qui aura fait la preuve de son efficacité absolue (comme on l'attend des filtres à prion), ou sur les deux.

Dans la prévention d'un risque transfusionnel, le bon équilibre est toujours délicat à trouver entre les besoins en produits sanguins et l'exclusion de groupes de « donneurs à risque ». Étant le pays le plus exposé, le Royaume-Uni a pris des mesures draconiennes, allant jusqu'à l'importation de tous les plasmas [104]. Parfois critiquées à leur instaurer, notamment pour leur coût et l'exclusion de nombreux candidats au don [105], la plupart de ces mesures ont vu leur légitimité et leur bien-fondé confortés avec le temps, particulièrement dans le filigrane du « principe de précaution » [106, 107].

Quant aux mesures transfusionnelles préventives prises dans les autres pays, elles sont essentiellement fondées sur l'exclusion des candidats au don ayant séjourné dans un pays « endémique ». À titre d'exemple, la Transfusion canadienne prit successivement des mesures de plus en plus larges pour exclure du don les individus devenus à risque par un séjour dans un pays touché par l'épidémie de vMCJ : en 1999, tout sujet ayant passé au moins six mois cumulés au Royaume-Uni à partir de 1980 ; en 2000, même critère pour un séjour en France ; en 2001, la durée tolérée de séjour en France ou au Royaume-Uni fut réduite à trois mois, et celle d'un séjour dans d'autres pays d'Europe ne devait pas excéder cinq années cumulées [108, 109].

Après avoir observé un cas de vMCJ chez un sujet ayant séjourné un mois au Royaume-Uni dans les années 80 et ayant développé en 2001 une maladie qui l'emporta en 2004, le Japon a également pris des mesures d'exclusion en transfusion, considérant que ce patient avait été contaminé au Royaume-Uni, bien qu'une quinzaine de bovins nés au Japon aient été identifiés comme atteints d'ESB. Après avoir écarté les donneurs ayant séjourné plus d'un mois au Royaume-Uni, les Autorités de santé japonaises prirent la décision d'exclure tout individu qui avait résidé fût-ce un seul jour dans ce pays entre 1980 et 1996. On le voit, l'infection à prion et le principe de précaution ont au moins deux points communs : ils peuvent franchir toutes les frontières et s'étendre de manière imprévisible.

Les paramètres du risque de contamination par transfusion de produits sanguins labiles

À ce stade des connaissances médicales sur le sujet, il est évident que tous les éléments du risque de contamination transfusionnelle par le prion ne sont pas éclaircis. Certains paraissent cependant d'ores et déjà établis, tels que :

1) le nombre de PSL reçus par le patient et la date de leur élaboration par rapport aux dates de l'épidémie et à celles de l'application des mesures préventives instaurées ces dernières années (exclusion de donneurs à risque, leucoréduction, etc.) ;

2) le nombre de sujets infectieux au sein de la population des donneurs du pays ou de la région : une forte incertitude existe évidemment sur cette prévalence, qui dépend de celle de la population générale, dont la période d'exposition en France, par ingestion de viandes importées du Royaume-Uni, fut 1990-1995. Un calcul prenant en compte le chiffre le plus élevé de la fourchette estimée entre 6 et 300 personnes infectées dans la population générale, et faisant figurer ces 300 cas parmi les trente-six millions de Français en âge de donner leur sang (18-65 ans) et éligibles comme donneurs, et en admettant qu'ils soient contaminants tout au long de leur phase d'incubation, a abouti à une prévalence de 1 sur 120 000, soit environ 8 sujets infectieux par million de donneurs, soit près de 11 dons par an : il s'agit là, rappelons-le, du *worst case scenario* [110]. L'hypothèse équivalente au Royaume-Uni est logiquement supérieure : 1 sur 10 000 ;

3) l'infectiosité d'un PSL vis-à-vis d'un ATNC est encore mal connue. Elle se mesure en se référant à une « unité infectieuse » (UI) définie comme la charge minimale capable de transmettre la maladie dans une expérimentation animale, pour un mode de contamination donné (signalons qu'il est aujourd'hui établi que les voies intracérébrale et sanguine ont une efficacité identique, avec une période d'incubation équivalente dans les deux cas [111, 112]). L'infectiosité d'une poche de sang dépend elle-même de trois éléments :

– l'ancienneté de l'infection du donneur, chez lequel le taux de prion pathologique circulant et donc l'infectiosité augmentent certainement avec la durée de l'incubation [113]. On ignore toutefois le délai au-delà duquel le sang d'un sujet contaminé devient infectieux en cas de don de sang : un donneur infecté, prélevé pendant les premiers temps de la période d'incubation, peut-il ne pas être à l'origine d'un don contaminant ? Des études faites sur des modèles animaux ont montré que l'infectiosité sanguine serait réelle au moins à partir de la seconde moitié de la période d'incubation, mais peut-être plus précocement encore (l'infectiosité du sang précéderait la présence du prion pathologique dans le cerveau ou les viscères [114]). Quoiqu'il en soit, même si des expériences animales suggèrent que l'infectiosité serait nulle ou négligeable au cours du premier tiers de la période d'incubation, la prudence est de considérer, dans l'état actuel des connaissances, qu'un PSL provenant d'un donneur

en phase d'incubation contient plus d'une UI, et ce d'autant que des années ont passé depuis l'époque de la transmission alimentaire de l'agent et que, par conséquent, les sujets contaminés ne sont plus dans la phase initiale de l'infection, qu'ils soient appelés à devenir un jour symptomatiques ou non : le paradoxe serait dès lors que, même si le nombre de sujets infectés n'augmente plus, le nombre de sujets infectieux, lui, pourrait croître avec le temps,

– deuxièmement, l'efficacité de la leucoréduction sur les produits cellulaires et le plasma. La leucoréduction du sang du hamster contaminé par un prion de tremblante du mouton ne retire qu'un peu moins de la moitié (42 %) de l'infectiosité présente, car l'infectiosité sanguine se répartit à peu près à égalité entre les leucocytes et le plasma [99, 115-117]. La leucoréduction a donc ainsi une efficacité moindre que celle qui avait été escomptée à l'origine [116]. Comme l'ont révélé des études fondées sur le sang de rongeurs contaminés expérimentalement, l'infectiosité du sang total serait, durant la phase asymptomatique, de 20-30 UI/mL [75], et sa distribution au sein des compartiments sanguins serait de l'ordre de 30 % dans le *buffy coat* et de 50 % dans le plasma [99, 117]. La présence d'une infectiosité érythrocytaire et plaquettaire n'est pas établie de manière formelle : elle semble en tout cas faible ou nulle [118, 119]. Ainsi, après la leucoréduction des PSL (qui doit laisser un taux de leucocytes résiduels $< 1 \times 10^6$ /unité), l'infectiosité des concentrés globulaires ou plaquettaires est liée essentiellement à celle du plasma résiduel. Précisons que, depuis 2003, l'utilisation de solution additive de conservation dans les PSL cellulaires contribue à réduire la quantité de plasma et, ce faisant, une charge infectieuse éventuelle, dans le cas où le donneur serait contaminé,

– enfin, des filtres spécifiques du prion et utilisables pour certains PSL sont en cours de validation, au Royaume-Uni et en France. Les premières données disponibles sur ces outils de rétention de l'agent de la vMCJ, qui sont des filtres de leucoréduction modifiés pour être dotés de cette nouvelle propriété, expriment leur capacité à réduire l'infectiosité sanguine de trois logs, ce qui constitue une contribution sans doute majeure à la diminution du risque transfusionnel [120]. De tels filtres sont élaborés par deux compagnies en vue d'une utilisation sur les globules rouges, l'application aux plaquettes et au plasma demeurant encore à l'étude : le système « Pall Leucotrap Affinity Prion Reduction Filter » (LAPFR) est intégré dans le filtre CompoSafe Pr de Fresenius [121-123] ; le système « Pathogen Removal and Diagnostic Technologies » (PRDT) TSE Affinity ligands est intégré dans le filtre P-Capt MC (MC pour Macopharma). Ce filtre d'affinité éliminerait toute trace détectable d'infectiosité dans un sang contaminé par un prion et préviendrait ainsi la contamination transfusionnelle [124]. Cette capacité a été objectivée par une étude fondée sur l'inoculation à des hamsters de sang total déleucocyté prélevé chez des animaux infectés par une ESST : quand le sang fut traité par passage sur filtre, aucun hamster ne fut contaminé ; quand le sang ne fut pas soumis

au filtre, certains hamsters développèrent la maladie liée au prion présent dans l'échantillon [125]. Il reste que si le potentiel de ces filtres a été montré par des contaminations artificielles expérimentales à l'aide de modèles animaux, leur efficacité dans la prévention de la contamination transfusionnelle interhumaine reste à valider [126]. Car le taux et la forme du prion pathologique circulant dans le compartiment sanguin humain différent peut-être de ceux d'un sang provenant d'un animal contaminé de manière expérimentale, *a fortiori* de ceux provenant d'extraits cérébraux, car rien n'indique que ces situations artificielles reproduisent exactement les caractéristiques qualitatives et quantitatives de la prionémie humaine. Il semble que les agrégats de prion pathologique les plus infectieux soient ceux constitués de 14 à 28 molécules [127], et l'on ignore la taille des agrégats circulants dans le sang. Par ailleurs, les conséquences de l'utilisation de tels filtres sur les éléments figurés sanguins (notamment dans le maintien de la fonctionnalité des plaquettes transfusées) et sur les protéines plasmatiques sont totalement inconnues [128] : qu'en est-il du risque de néo-antigénicité ou d'induction d'inhibiteur ?

4) le statut homozygote MM du receveur a un impact sur le risque de développement de la maladie, avec peut-être une hiérarchie du risque allant en décroissant des sujets homozygotes MM aux hétérozygotes MV, puis aux homozygotes VV, mais ce statut a-t-il également une influence sur l'infectiosité du produit sanguin reçu ? La réponse n'est pas établie de manière claire, mais la non-homozygotie MM n'apparaît pas comme un élément de protection absolue contre l'infectiosité, comme l'indiquent le cas du deuxième receveur anglais (hétérozygote MV, il n'en fut pas moins contaminé par voie transfusionnelle) et des expérimentations animales [45]. Ce qui est sûr, c'est que l'impact clinique de la contamination transfusionnelle est plus important quand on limite aux seuls sujets homozygotes MM la population « exposée » au risque de développer la maladie ;

5) enfin, la durée de l'incubation, élément essentiel et dont la moyenne est inconnue à ce jour, et à laquelle se rajoutent deux paramètres majeurs : l'âge du receveur et la survie post-transfusionnelle moyenne, que l'on sait lourdement grevée de décès liés à la maladie causale dans les premières années qui suivent la transfusion [129].

Un test diagnostique qui se fait attendre

N'étant pas composé d'acide nucléique et n'entraînant pas de réponse immunitaire de l'organisme infecté, le prion pathologique ne peut être détecté par les méthodes moléculaires ou sérologiques habituellement utilisées dans le diagnostic virologique, notamment dans la qualification des dons de sang. Par ailleurs, la recherche de marqueurs indirects n'a abouti jusqu'ici qu'à des impasses [130-132].

En *post-mortem*, la détection du prion pathologique se fait sur un broyat de tissu cérébral, avec élimination de la forme PrP^C

(normale) par une solution de protéinase K : l'homogénat est mis en contact avec un anticorps anti-PrP, lequel se conjugue avec la forme PrP^{Sc} si elle est présente dans l'échantillon étudié. La révélation s'effectue par western-blot, avec migration du complexe antigène-anticorps dans la zone attendue, fonction de la taille de ce complexe, ou par un test Elisa, avec un anticorps anti-PrP.

Chez le porteur asymptomatique ou devenu symptomatique, le test diagnostique le plus aisément réalisable sera évidemment fondé sur une détection sanguine du prion pathologique. Cependant, la forme que prend ce prion dans le sang est mal connue et pourrait différer de celle présente dans le système nerveux central : car si l'infection cérébrale est associée à une forme agrégée du PrP^{Sc}, l'infection sanguine l'est à une fraction beaucoup plus soluble de la protéine. Cette différence de structure des deux formes pourrait avoir son influence à la fois sur l'efficacité des tests diagnostiques (la plupart de ceux en cours de mise au point étant fondés sur la capacité de détection de la forme cérébrale) et sur celle des procédures d'élimination du prion que constituent les filtres. Par ailleurs, le prion pathologique ne représente qu'une faible partie du prion normal circulant : or, c'est la forme pathologique que le test doit détecter. La plupart des outils diagnostiques développés jusqu'ici s'appuient sur les différences physico-chimiques des deux formes, en particulier sur la résistance de la forme pathologique à la protéinase K, et certains de ces tests apparaissent déjà plus adaptables que d'autres à une utilisation en routine [39, 133-136]. Récemment, un test prometteur distinguant et quantifiant les deux types de prion, le pathologique et le normal a été décrit [137].

Une des difficultés que rencontre la mise au point de ces tests est la rareté d'échantillons sanguins provenant de sujets infectés. Pour des raisons éthiques, il n'est pas possible de disposer de quantités importantes de sang : sur les 165 cas de vMCI rapportés au Royaume-Uni, seuls 4 sont encore en vie en juin 2007.

Pourtant, un grand nombre de points mystérieux sur la transmissibilité, l'épidémiologie et l'histoire naturelle de l'infection à prion seraient sans doute résolus si un ou plusieurs tests diagnostiques, ayant des caractéristiques de sensibilité, de spécificité et de reproductibilité « acceptables », étaient disponibles et applicables sur de grandes séries [102, 138, 139]. De gros efforts sont actuellement faits pour concevoir et développer de tels outils, qui, certainement, trouveraient rapidement une légitimité dans la qualification des dons de sang et contribueraient, de manière décisive, à mettre un terme à ce qui est probablement devenu, pour le prion, un mode de diffusion de premier plan depuis que des mesures radicales ont été prises pour annuler la transmission alimentaire. Ces tests diagnostiques devront toutefois répondre à des critères d'exigence relativement stricts [140, 141] :

– une haute sensibilité, afin de détecter une charge infectieuse plasmatique que l'on sait pouvoir être très faible chez

les sujets asymptomatiques, car même très basse, une prionémie n'en est pas moins potentiellement contaminante chez le receveur du PSL. Il sera donc demandé aux tests de détecter, de manière au moins qualitative, la forme anormale de PrP dans le plasma, et ce tant chez les malades atteints de vMCJ que, surtout, chez les sujets infectieux asymptomatiques ;

– la spécificité est essentielle, d'autant que comme nous l'avons dit, la protéine normale est présente dans le sang circulant et peut s'observer à un taux élevé chez des sujets atteints de maladie à prion [142]. Des résultats faussement positifs auraient des conséquences désastreuses, notamment en termes d'annonce auprès des sujets dont le don de sang serait trouvé à tort « positif », sans parler de l'exclusion injustifiée d'un grand nombre de donneurs dans un contexte national frôlant parfois la carence. En d'autres termes, si le test destiné à la qualification des dons de sang n'est pas pourvu d'une spécificité quasi absolue, tout résultat positif devra être impérativement contrôlé par un test de confirmation. À ce jour, il n'est pas permis de savoir si la solution sera l'adoption de deux tests faits simultanément, ou si l'un sera utilisé en confirmation de tout résultat positif de l'autre. Sur ce problème de spécificité, il a été envisagé que, si un test de détection d'une sensibilité de 99 % et d'une spécificité équivalente était appliqué à la qualification des dons, dans une population ayant une prévalence du variant de 1 sur 10 000 (qui est l'estimation pour les donneurs du Royaume-Uni), il y aurait 99 sujets détectés en phase d'incubation et correspondant à des « vrais positifs » par million de donneurs testés, mais 10 000 donneurs du même effectif seraient des « faux positifs » (il n'y aurait en revanche qu'un faux négatif sur un million) [143]. En France, où la prévalence estimée est d'un donneur infecté sur 120 000, environ 9 porteurs du variant seraient détectés, mais le nombre de faux positifs serait tout aussi élevé qu'au Royaume-Uni : 10 000 par million de donneurs, soit autant de sujets qui ne pourraient plus donner leur sang et qu'il conviendrait d'informer de leur statut biologique. On le conçoit, il est impératif de disposer de tests de sensibilité et de spécificité très élevées, et de tests de confirmation fiables pour faire la part des vrais et des faux positifs ;

– enfin, ces tests devront être reproductibles, applicables à grande échelle et réalisables dans un temps court, en tout cas compatible avec la durée de péremption plaquettaire, critères qui furent exigés (et obtenus) avec le VIH et le VHC pour le DGV en transfusion.

Les tests de diagnostic de l'infection à prion décrits jusqu'ici se sont avérés de sensibilité et de spécificité variables [144], sans qu'aucun n'ait pleinement justifié des qualités requises pour participer à la qualification des dons de sang. Il faut dire que les difficultés d'obtention d'échantillons sanguins humains prionémiques ne simplifient pas les travaux d'expertise de ces tests.

Une des techniques dont il a été le plus question ces dernières années est celle de l'amplification cyclique [145], qui vise à détecter des quantités faibles de PrP^{Sc} dans divers tissus de

modèles animaux expérimentaux et d'en mesurer l'infectiosité [146-148]. Son principe est une amplification cyclique du « mauvais pliage » protéique (*Protein Misfolding Cyclic Amplification* ou PMCA) : il s'agit d'une accélération *in vitro* du processus par lequel les prions pathologiques, qui sont en quantité infime et indécélable dans l'échantillon étudié, convertissent les prions normaux, ajoutés en grande quantité dans le prélèvement, en forme infectieuse mal pliée. Après plusieurs cycles, séparés chacun par un traitement aux ultrasons pour fractionner les agrégats néoformés, la quantité de prions pathologiques augmente de manière exponentielle au point de devenir décelable par un test tel que le *western blot*. Bien entendu, cette amplification cyclique ne produit un résultat positif que si la forme pathologique est présente, même en très faible quantité, dans l'échantillon de départ (*figure 4*). Si elle confirme ses promesses, une telle technique — outre le fait qu'elle conforte indirectement l'hypothèse du mécanisme d'action *in vivo* du prion pathologique en le reconstituant *in vitro* — pourrait permettre un diagnostic de l'infection à un stade précoce et asymptomatique, en mettant en évidence la présence sanguine de la forme pathologique de la protéine. Dans sa présentation actuelle, elle n'est cependant pas à même d'être applicable dans le contexte transfusionnel, avec les impératifs d'un dépistage de masse.

La non-disponibilité d'un test ayant les qualités susdites a des conséquences majeures : l'impossibilité d'écarter du don de sang l'ensemble des porteurs du variant, et la nécessité de ne pouvoir fonder la qualification des donneurs et des dons que sur des mesures non spécifiques ou incomplètement efficaces (recherche d'un facteur de risque chez le donneur, leucoréduction, etc.) ; l'impossibilité de dépister les receveurs contaminés, et celle de confirmer ou d'infirmar la contamination chez des receveurs à risque ; la difficulté d'obtenir des données sur la durée moyenne d'incubation de la maladie ; l'impossibilité de « réhabiliter » les donneurs exclus par un séjour au Royaume-Uni durant les années incriminées, surtout lorsque l'on constate que, parmi tous les cas de vMCJ identifiés en France, cette notion n'a été retrouvée qu'une seule fois (le fait est qu'il devient de plus en plus paradoxal d'évincer des donneurs sur la base d'un séjour outre-Manche quand la quasi-totalité des sujets français entrés dans la maladie ont été contaminés dans leur propre pays). Il conviendra par ailleurs de veiller à ce que l'effet positif de cette « réhabilitation » rendue possible par la disponibilité d'un test ne soit pas contrebalancé par un effet négatif, lié à l'impact de l'annonce par les médias de la mise en route d'un dépistage transfusionnel spécifique, avec la crainte, éprouvable par une partie de la population, d'apprendre, en donnant son sang, le portage de l'agent infectieux d'une maladie pour laquelle il n'existe aucun traitement curatif.

En attendant qu'ils aient franchi ces étapes de validation préalables à leur utilisation éventuelle dans le dépistage des donneurs infectés par le variant, les premiers tests pourraient être mis à profit — et du coup trouver un début de validation — dans la réalisation d'études sur échantillothèques, en vue

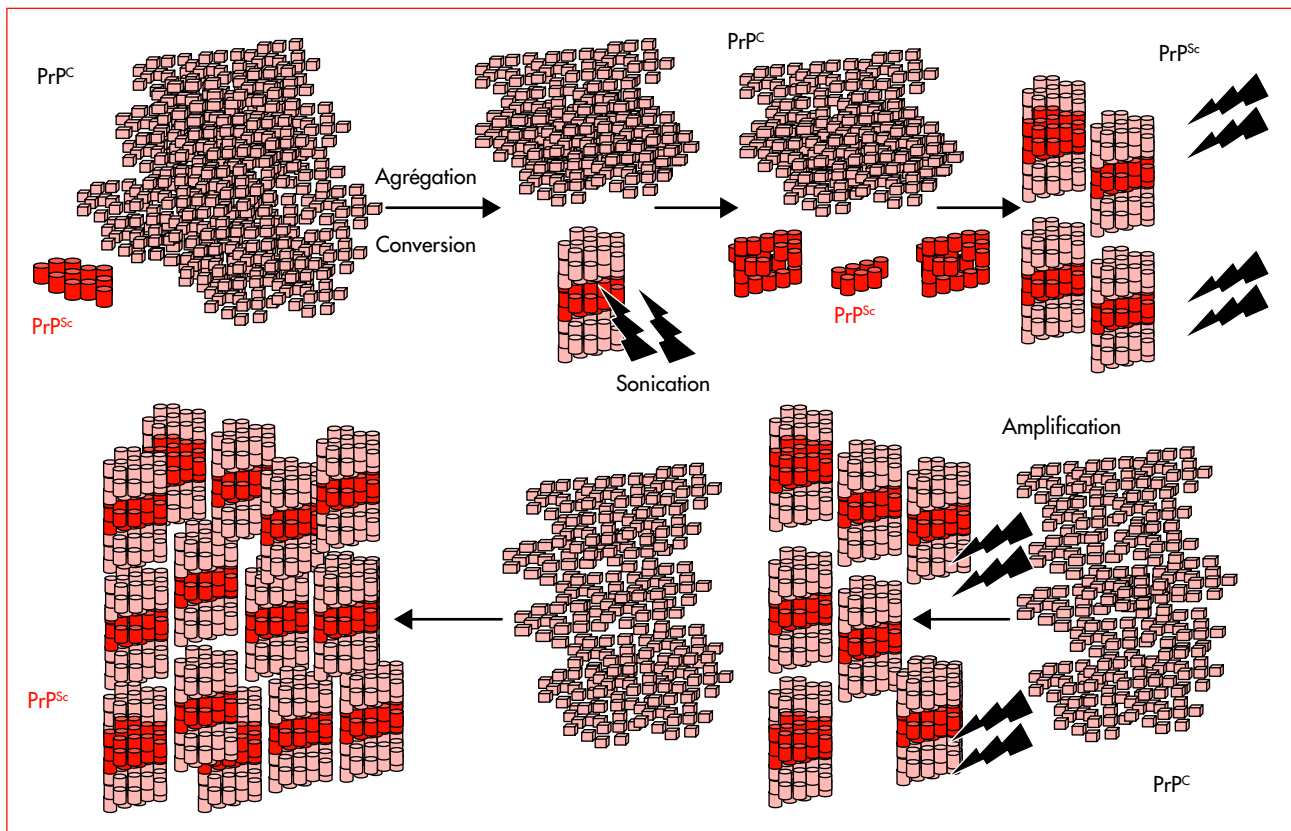


Figure 4. Technique du *Protein Misfolding Cyclic Amplification* (PMCA) : amplification cyclique du « mauvais pliage » protéique.

d'apprécier l'étendue de l'épidémie dans la population générale et dans la population transfusée, en déterminant à la fois la prévalence de l'agent chez les donneurs et les receveurs, ainsi que sa transmissibilité sanguine, à l'aide de bibliothèques anonymisées et constituées d'échantillons plasmatiques appariés de donneurs et de receveurs que leurs transfusions répétées exposent particulièrement au risque (malades thalassémiques ou drépanocytaires en échanges érythrocytaires répétés, recevant au cours de leur vie plusieurs centaines de PSL). Telle est, en tout cas, une des possibilités de la bibliothèque actuellement entreprise à l'échelon européen et dénommée « BOTIA » (*Blood and Organ Transmissible Infectious Agents*) [149]. En effet, pour des raisons éthiques majeures et évidentes, il sera malaisé d'utiliser des tests imparfaitement validés sur des échantillons non anonymisés. Un transfuseur canadien imaginait l'impossible lettre-type de notification au donneur : « Il nous faut vous informer qu'un test effectué sur votre don de sang a été trouvé positif pour l'agent responsable de la maladie de Creutzfeld-Jakob. Nous ignorons ce qu'un tel résultat signifie sur le plan médical, et nous n'avons pas de moyen de confirmer ce résultat. Nous vous demandons toutefois de ne plus donner votre sang » [150].

Pour l'heure, en l'absence d'un outil diagnostique utilisable dans la qualification des dons de sang, les mesures préventives mise en place au Royaume-Uni, en France et dans d'autres pays restent de mise. Si un test est un jour utilisé en

transfusion, il sera toujours temps de s'intéresser à l'opportunité de l'allègement éventuel des mesures préventives indirectes appliquées au cours des années écoulées.

Les incertitudes

Une maladie de pathogénicité incomplètement connue, des prévalences incertaines de l'agent infectieux dans les groupes à risque et dans la population générale, l'absence de test diagnostique applicable sur une grande échelle, une infectiosité et une durée d'incubation variables, l'absence de toute thérapeutique, tels sont les principaux éléments qui pèsent sur le risque transfusionnel et handicapent la prévention de ce risque. De nombreuses questions n'ont donc pas de réponse, et on ne peut que les énumérer, et dans un ordre ne correspondant sans doute pas à celui dans lequel elles trouveront précisément leurs solutions.

A) Après le pic de 1999 et la régression qui a marqué ensuite l'évolution de l'épidémie d'origine alimentaire au Royaume-Uni, y aura-t-il un second pic lié aux cas d'origine transfusionnelle ? À ce jour, l'épidémie est restée somme toute limitée : environ 200 cas dans le monde, dont plus des trois quarts apparus au Royaume-Uni. Les hypothèses pessimistes initiales, aussi vagues qu'inquiétantes, ont été considérablement revues à la baisse, et la possibilité d'une pandémie immi-

nente ne trouve plus guère de partisans. Par ailleurs, il a été remarqué que les pics qui avaient suivi le pic initial des cas de MCJ liés à l'injection d'hormone de croissance hypophysaire contaminée étaient en France de moins en moins élevés, comme si les patients porteurs de certains génotypes avaient une moindre susceptibilité à l'infection et/ou à l'apparition de la maladie. On ne sait à ce jour s'il en ira de même pour d'éventuels futurs pics successifs de vMCJ, mais les épidémiologistes n'excluent pas l'hypothèse d'une épidémie secondaire interhumaine liée à l'émergence de cas de transmission par transfusion de PSL, par greffe d'organes ou par utilisation de matériel chirurgical ou endoscopique contaminé, avec réamplification du phénomène à partir de porteurs asymptomatiques du prion. Enfin, il est avéré que la transmission d'un prion pathologique au sein de la même espèce induit, par rapport à la transmission interspèces, un temps d'incubation plus court et une majoration de l'efficacité de la transmission de l'agent. Ceci pourrait entraîner un pronostic plus lourd de la contamination transfusionnelle par rapport à la contamination animale.

B) Combien y a-t-il de sujets infectés dans la population générale au Royaume-Uni et en France, et combien y a-t-il de donneurs de sang potentiellement infectieux ? Les résultats de l'étude rétrospective anglaise sur la prévalence du variant dans les pièces opératoires d'appendicectomie et d'amygdalectomie allaient dans le sens d'une prévalence de porteurs asymptomatiques plus élevée que le suggérait le nombre de cas symptomatiques répertoriés, avec, toutefois, les limites et les biais d'une étude rétrospective. D'un autre côté, il a été fait remarquer que, comme chez le transfusé anglais hétérozygote MV et porteur du variant, la PrP^{sc} avait été seulement détectable dans la rate et les ganglions cervicaux, mais non dans les amygdales et l'appendice, cette étude épidémiologique rétrospective basée sur la détection appendiculaire du prion pathologique pouvait aussi sous-estimer l'ampleur réelle de l'épidémie dans la population générale.

C) Quelle est la cinétique d'apparition d'une « prionémie » infectieuse durant la phase d'incubation ? Pour l'estimation du risque transfusionnel, l'hypothèse retenue est celle d'une infectiosité sanguine et donc d'une transmissibilité potentielle tout au long de cette période, mais il est très possible que la prionémie soit inexistante ou trop faible, dans les premiers mois ou les premières années qui suivent l'infection, pour générer des contaminations transfusionnelles.

D) Quel est l'effet des mesures de prévention actuelles, notamment celui de la leucoréduction ? La marge de sécurité que celle-ci apporte est inconnue, mais cette baisse d'infectiosité a-t-elle permis et permettra-t-elle d'éviter certaines contaminations transfusionnelles ? À ce jour, le démenti le plus redouté serait l'apparition d'une vMCJ chez un receveur ayant été exclusivement transfusé avec des PSL déleucocytés. Une telle observation n'a cependant pas encore été rapportée.

E) Les sujets non homozygotes MM (c'est-à-dire 60 % de la population) ont-ils une résistance génétique totale au développement de la maladie, ou, hypothèse pessimiste, la

développeront-ils après une période d'incubation simplement plus prolongée ? Ce dernier cas de figure impliquerait une seconde vague épidémique retardée, dont les premiers cas n'apparaîtraient qu'au cours des décennies futures. Cette seconde vague serait d'ailleurs en bonne partie censurée par d'autres causes de décès et, de toute manière, probablement inférieure à la première [151]. Mais dans les deux cas, les sujets infectés asymptomatiques n'en demeureront pas moins contaminants [45, 152] s'ils donnent leur sang, avec des receveurs qui pourront devenir symptomatiques s'ils sont homozygotes MM. Une telle situation serait funeste sur le plan épidémiologique : un donneur infecté MV ou VV pourrait ainsi transmettre le variant à nombre de receveurs et ne pas développer la maladie, ces derniers la développant en revanche en cas d'homozygotie MM. De tels contextes ont déjà existé dans des contaminations virales transfusionnelles, notamment dans l'infection à VIH, où un receveur contaminé a pu entrer dans la maladie plusieurs années avant le donneur-source. Dans ces conditions, les donneurs qui seraient porteurs du variant mais ne développeraient pas la maladie en raison d'un génotype protecteur au codon 129, ne pourraient être identifiés que par des enquêtes transfusionnelles ascendantes établissant leur statut de donneur-source commun à deux (ou plus) receveurs de PSL contaminés par le variant et ayant développé la maladie en raison d'un génotype non protecteur. Ces enquêtes seraient d'autant plus cruciales qu'elles seraient seules à pouvoir identifier un donneur régulier infecté et à interrompre une cascade de contaminations transfusionnelles en écartant définitivement le donneur-source du don de sang. On conçoit, dans un tel contexte, à quel point l'exclusion des anciens transfusés du don de sang est une mesure essentielle pour casser une boucle de contamination entre la population des donneurs et celle des receveurs. Prise en France il y a une dizaine d'années, elle a peut-être évité un nombre, appelé à demeurer non quantifiable, de contaminations transfusionnelles par l'agent de la vMCJ, même si une étude allemande récente, fondée sur un modèle mathématique, relativise l'effet préventif, sur le nombre de cas de vMCJ à venir, de cette exclusion du don des sujets ayant un passé transfusionnel [153], arguant que la plupart des donneurs infectés l'ont été par voie alimentaire et, n'ayant jamais été transfusés — ceci en accord avec leur moyenne d'âge — ne seraient pas écartés du don de sang.

F) Combien précisément de donneurs et de receveurs présenteront-ils une vMCJ au cours des toutes prochaines années, déclenchant chaque fois de telles enquêtes transfusionnelles, descendantes ou ascendantes selon le cas ? Dans l'étude TMER du Royaume-Uni, parmi les receveurs de PSL provenant de donneurs ayant présenté une vMCJ, la proportion de sujets ayant développé la maladie est apparue importante dans un intervalle de temps relativement court, inférieur à une décennie, surtout en tenant compte du fait que le groupe véritablement « à risque » se trouvait encore restreint par le statut génétique du codon 129.

G) La menace transfusionnelle du prion sera-t-elle strictement limitée aux deux nations touchées jusqu'ici par l'épidémie alimentaire que sont le Royaume-Uni et la France ? La description, dans d'autres pays, comme l'Espagne et l'Arabie-Saoudite, de cas de vMCJ avec des antécédents de dons de sang, suggère déjà que la réponse est négative et que le problème a désormais une dimension internationale, avec ce que cela entraîne comme niveau de vigilance.

Conclusion

La possibilité qu'un receveur de PSL développe une vMCJ 10, 20 ou 30 ans après la transfusion, et celle qu'un donneur régulier la développe après le même laps de temps sont deux situations qui ne trouveront leur résolution qu'à l'aide d'une traçabilité transfusionnelle quasiment aussi durable qu'une vie humaine. Car le danger essentiel de l'épidémie alimentaire est désormais le problème des porteurs chroniques asymptomatiques qui donnent leur sang ou peuvent transmettre le variant par le biais des dispositifs médicaux utilisés dans le contexte d'interventions chirurgicales ou endoscopiques [154], créant et amplifiant ainsi une épidémie « secondaire ».

Une autre notion capitale est la protection induite par la leucoréduction, sur laquelle on manque de recul. Dans un autre « scénario du pire » où des cas de vMCJ apparaîtraient chez des receveurs exclusivement transfusés avec des PSL déleucocytés, et donc vraisemblablement contaminés par l'infectiosité résiduelle du plasma, la seule ressource serait, en l'absence de test pour la qualification des dons, de recourir aux filtres à prions, si les incertitudes sur leur efficacité et leur innocuité sont levées, ou de ne plus utiliser que des concentrés globulaires lavés, avec les conséquences logistiques (et financières) que cela entraînerait [155] — même si une réduction partielle de la prionémie par la déleucocytation contribue à diminuer le taux de receveurs contaminés et/ou à induire une incubation beaucoup plus longue dans l'hypothèse où cette dernière serait proportionnelle à la charge infectieuse initiale contaminante [156].

Beaucoup de professionnels de la sécurité transfusionnelle infectieuse misent sur les capacités des filtres à prion, tout en admettant que la démonstration décisive de leur efficacité reste difficile à l'heure actuelle pour les raisons que l'on a vues et qui sont dominées par l'absence de test diagnostique utilisable sur de grandes séries. Si une telle démonstration était réalisée, il serait possible de lever l'ensemble ou une partie des mesures prises pour exclure les sujets prétendument « à risque ». Pour le moment, la décision de recourir à ces filtres en usage systématique est aussi délicate et lourde de conséquences que celle de ne pas les utiliser. De plus, la mise au point d'un test applicable en transfusion susciterait une question non moins difficile : filtre ou test ? Filtre et test ? Quant aux procédures d'inactivation des agents infectieux éventuellement présents dans les produits sanguins labiles, elles sont en cours de mise au point, voire, pour les plaquet-

tes, d'application, mais étant ciblées sur les acides nucléiques de ces agents, elles n'auront pas d'efficacité sur les prions, qui en sont dépourvus. Pour cette raison, ces derniers pourraient bien être un jour l'ultime agent infectieux transmissible par voie transfusionnelle, alors que les virus, bactéries et parasites, anciens ou émergents, connus ou inconnus, verraient leur risque contrôlé de manière radicale par les procédures d'inactivation.

En définitive, le dilemme sur le risque transfusionnel du prion tient dans trois interrogations : quelle est la possibilité, lors de la transfusion d'un PSL, qu'un receveur soit exposé au sang d'un donneur porteur du variant ? Si un receveur est exposé au sang d'un donneur infecté, quelle est la possibilité qu'il soit contaminé ? Si le receveur a été contaminé, quelle est la possibilité qu'il développe une vMCJ ?

La transmission transfusionnelle du variant de la MCJ est désormais acquise, mais le bénéfice transfusionnel reste évidemment sans commune mesure avec le risque encouru, sous réserve, évidemment, que les PSL soient prescrits à bon escient. Car il convient de mettre en perspective le nombre de vies sauvées chaque jour par la transfusion et les cas transfusionnels de vMCJ recensés à ce jour, qui sont au nombre de 3 à l'échelle mondiale. De surcroît, un tel effectif, infime sur le plan de la Santé publique, est à rapprocher du nombre de cas recensés pour les autres MCJ iatrogènes, 100 fois plus nombreux à la même échelle, avec un cumul de 196 cas liés à des greffes de dure-mère et de 194 cas après administration d'hormone de croissance [24]. Il faut aussi replacer ce risque, qui touche principalement deux pays européens, avec les risques infectieux encourus par les malades transfusés dans des régions du globe dont les moyens sont si limités que la sécurité n'y est même pas toujours assurée pour les virus transfusionnels majeurs.

Quoiqu'il en soit, jamais autant de mesures ne furent prises en transfusion pour lutter contre un risque aussi peu quantifié, alors même qu'aucun cas de transmission transfusionnelle n'avait encore été rapporté. Le principe de précaution n'est pas seulement entré dans la loi : il a pénétré les esprits. ■

RÉFÉRENCES

1. Cuillé J, Chelle PL. La tremblante du mouton est bien inoculable. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences de Paris* 1938 ; 206 : 78-9.
2. Wells GAH, Scott AC, Johnson CT, *et al.* A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. *Vet Rec* 1987 ; 121 : 419-20.
3. Anderson RM, Donnelly CA, Ferguson NM, *et al.* Transmission dynamics and epidemiology of BSE in British cattle. *Nature* 1996 ; 382 : 779-88.
4. Smith PG, Bradley R. Bovine spongiform encephalopathy (BSE) and its epidemiology. *Br Med Bull* 2003 ; 66 : 185-98.
5. Prusiner SB. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 1982 ; 216 : 136-44.
6. Diener TO, McKinkley MP, Prusiner SB. Viroids and prions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982 ; 79 : 5220-4.

7. Brown P, Qin K, Herms JW, *et al.* The cellular prion protein binds copper *in vivo*. *Nature* 1997 ; 390 : 684-7.
8. Windl O, Dempster M, Estibeiro P, Lathe R. A candidate marsupial PrP gene reveals two domains conserved in mammalian PrP proteins. *Gene* 1999 ; 159 : 181-6.
9. Zhang CC, Steele AD, Lindquist S, *et al.* Prion protein is expressed on longterm repopulating hematopoietic stem cells and is important for their self-renewal. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006 ; 103 : 2184-9.
10. Aucouturier P, Kascsak RJ, Frangione B, Wisniewski T. Biochemical and conformational variability of human prion strains in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurosci Lett* 1999 ; 274 : 33-6.
11. Oesch B, Westaway D, Walchli M, *et al.* A cellular gene encodes scrapie PrP 27-30 protein. *Cell* 1985 ; 40 : 735-46.
12. Prusiner SB. Prions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998 ; 95 : 13363-83.
13. Griffith JS. Self-replication and scrapie. *Nature* 1967 ; 215 : 1043-4.
14. Alper T, Cramp WA, Haig DA, Clarke MC. Does the agent of scrapie replicate without nucleic acid? *Nature* 1967 ; 214 : 764-6.
15. Johnson R. Prion diseases. *Lancet Neurol* 2005 ; 4 : 635-42.
16. Collinge J, Whitfield J, McKintosh E, *et al.* Kuru in the 21st century : an acquired human prion disease with very long incubation periods. *Lancet* 2006 ; 367 : 2068-74.
17. Wadsworth JD, Hill AF, Beck JA, Collinge J. Molecular and clinical classification of human prion disease. *Br Med Bull* 2003 ; 66 : 241-54.
18. Gajdusek DC, Zigas V. Degenerative disease of the central nervous system in New Guinea : epidemic of "kuru" in the native population. *N Engl J Med* 1957 ; 257 : 974-8.
19. Creutzfeldt HG. Über eine eigenartige herdförmige Erkrankung des zentralnervensystems. *Zeitschrift für die gesamte Neurol Psychiatr (Bucur)* 1920 ; 57 : 1-18.
20. Jakob A. Über eine der multiplen sklerose klinisch nahestehende Erkrankung des zentralnervensystems (spastische pseudoklerose) mit bemerkenswertem anatomischen Befunde. *Med Klin* 1921 ; 17 : 372-6.
21. Holman RC, Khan AS, Belay ED, Schonberger ED. Creutzfeldt-Jakob disease in the United States, 1979-1994 : using national mortality data to assess the possible occurrence of variant cases. *Emerg Infect Dis* 1996 ; 2 : 333-7.
22. Lemmer K, Mielke M, Paul G, *et al.* Decontamination of surgical instruments from protein : *in vitro* studies on the detachment, destabilization and degradation of PrP^{Sc} bound to steel surfaces. *J Gen Virol* 2004 ; 85 : 3805-16.
23. Brown P, Preece M, Brandel JP, *et al.* Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease at the millennium. *Neurology* 2000 ; 55 : 1075-81.
24. Brown P, Brandel JP, Preece M, Sato T. Iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease. The warning of an era. *Neurology* 2006 ; 67 : 390-3.
25. Collinge J, Sidle KC, Meads J, Ironside J, Hill AF. Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of "new variant". *Nature* 1996 ; 383 : 685-90.
26. Bruce ME, Will RG, Ironside JW, *et al.* Transmissions to mice indicate that "new variants" CJD is caused by the BSE agent. *Nature* 1997 ; 389 : 498-501.
27. Will RG, Ironside JW, Zeidler M, *et al.* A new variant of CJD in the UK. *Lancet* 1996 ; 347 : 921-5.
28. Will RG, Zeidler M, Stewart GE, *et al.* Diagnosis of new variant of Creutzfeldt-Jakob disease. *Ann Neurol* 2000 ; 47 : 575-82.
29. Collie DA, Summers DM, Sellar RJ, *et al.* Diagnosing variant Creutzfeldt-Jakob disease with the pulvinar sign : MRI imaging findings in 86 neuropathologically confirmed cases. *AJNR Am J Neuroradiol* 2003 ; 24 : 1560-9.
30. Zeidler M, Stewart GE, Barraclough CR, *et al.* New variant Creutzfeldt-Jakob disease : neurological features and diagnostic tests. *Lancet* 1997 ; 350 : 903-7.
31. Head MW, Bunn TJ, Bishop MT, *et al.* Prion protein heterogeneity in sporadic but not variant Creutzfeldt-Jakob disease : UK cases 1991-2002. *Ann Neurol* 2004 ; 55 : 851-9.
32. Ironside JW, Head MW, Bell JE, McCardle L, Will RG. Laboratory diagnosis of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Histopathology* 2000 ; 37 : 1-9.
33. Bruce ME, McConnell I, Will RG, Ironside JW. Detection of variant Creutzfeldt-Jakob disease (vCJD) infectivity in extraneural tissues. *Lancet* 2001 ; 358 : 208-9.
34. Weissmann C, Raeber AJ, Montrasio F, *et al.* Prions and the lymphoreticular system. *Philos Trans R Lond B Biol Sci* 2001 ; 356 : 177-84.
35. Hill AF, Zeidler M, Ironside J, Collinge J. Diagnosis of new variant Creutzfeldt-Jakob disease by tonsil biopsy. *Lancet* 1997 ; 349 : 99-100.
36. Head MW, Ritchie D, Smith N, *et al.* Peripheral tissue involvement in sporadic, iatrogenic, and variant Creutzfeldt-Jakob disease : an immunohistochemical, quantitative, and biochemical study. *Am J Pathol* 2004 ; 164 : 143-53.
37. Ironside JW, McCardle L, Horsburgh A, Lim Z, Head MW. Pathological diagnosis of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *APMIS* 2002 ; 110 : 79-87.
38. Hill AF, Butterworth RJ, Joiner S, *et al.* Investigation of variant Creutzfeldt-Jakob disease and other human prion diseases with tonsil biopsy samples. *Lancet* 1999 ; 353 : 183-9.
39. Wadsworth JD, Joiner S, Hill AF, *et al.* Tissue distribution of protease resistant prion protein in variant Creutzfeldt-Jakob disease using a highly sensitive immunoblotting assay. *Lancet* 2001 ; 358 : 171-80.
40. Hilton DA, Fathers E, Edwards P, Ironside JW, Zajicek J. Prion immunoreactivity in appendix before clinical onset of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet* 1998 ; 352 : 703-4.
41. Hilton D, Ghani A, Conyers L, *et al.* Prevalence of lymphoreticular prion protein accumulation in UK tissue samples. *J Pathol* 2004 ; 203 : 733-9.
42. Haik S, Faucheux BA, Sazdovitch V, *et al.* The sympathetic nervous system is involved in variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Nat Med* 2003 ; 9 : 1121-3.
43. Ghani AC, Ferguson NM, Donnelly CA, Anderson RM. Factors determining the pattern of the variant Creutzfeldt-Jakob disease (vCJD) epidemic in the UK. *Proc Biol Sci* 2003 ; 270 : 689-98.
44. Wadsworth JD, Asante EA, Desbrulais M, *et al.* Human prion protein with valine 129 prevents expression of variant CJD phenotype. *Science* 2004 ; 306 : 1793-6.
45. Bishop MT, Hart P, Aitchison L, *et al.* Predicting susceptibility and incubation time of human-to-human transmission of vCJD. *Lancet Neurology* 2006 ; 5 : 393-8.
46. Ironside JW. Human prion diseases : biology and transmission by blood. *ISBT Science Series* 2006 ; 1 : 15-20.

47. Alperovitch A, Zerr I, Pocchiari M, *et al.* Codon 129 prion protein genotype and sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet* 1999 ; 15 : 1673-4.
48. Deslys JP, Jaegly A, Hullard d'Aignaux J, Mouthon F, deVilleneuve TB, Dormont D. Genotype at codon 129 and susceptibility to Creutzfeldt-Jakob disease. *Lancet* 1998 ; 351 : 1251.
49. Goldfarb LG, Cervenakova L, Gajdusek DC. Genetic studies in relation to kuru : an overview. *Curr Mol Med* 2004 ; 4 : 375-84.
50. Cervenakova L, Goldfarb LG, Garruto R, Lee HS, Gajdusek DC, Brown P. Phenotype-genotype studies in kuru : implications for new variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998 ; 95 : 13239-41.
51. Lee HS, Brown P, Cervenakova L, *et al.* Increased susceptibility to kuru of carriers of the PRNP 129 methionine/methionine genotype. *J Infect Dis* 2001 ; 183 : 192-6.
52. Brandel JP, Preece M, Brown P, *et al.* Distribution of codon 129 genotype in human growth hormone-treated CJD patients in France and the UK. *Lancet* 2003 ; 362 : 128-30.
53. Ward HJ, Everington D, Cousens SN, *et al.* Risk factors for variant Creutzfeldt-Jakob disease : a case-control study. *Ann Neurol* 2006 ; 59 : 111-20.
54. Alperovitch A, Will RG. Predicting the size of the vCJD epidemic in France. *C R Biol* 2002 ; 325 : 33-6.
55. Chadeau-Hyam M, Tard A, Bird S, *et al.* Estimation of the exposure of the French population to the BSE agent : comparison of the 1980-95 consumption of beef products containing mechanically recovered meat in France and the UK, by birth cohort and gender. *Stat Methods Med Res* 2003 ; 12 : 247-60.
56. Cooper JD, Bird SM. UK bovine carcass meat consumed as burgers, sausages and other meat products : by birth cohort and gender. *J Cancer Epidemiol Prev* 2002 ; 7 : 49-52.
57. Chadeau-Hyam M, Alperovitch A. Risk of variant Creutzfeldt-Jakob disease in France. *Int J Epidemiol* 2005 ; 34 : 46-52.
58. Brandel JP, Salomon D, Alperovitch A. Épidémiologie de la variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob en France. *Transfus Clin Biol* 2006 ; 13 : 304-6.
59. Ghani AC, Ferguson NM, Donnelly CA, Anderson RM. Predicted vCJD mortality in Great Britain. *Nature* 2000 ; 406 : 583-4.
60. Cousens SN, Vynnycky E, Zeidler M, Will RG, Smith PG. Predicting the CJD epidemic in humans. *Nature* 1997 ; 385 : 197-8.
61. Ghani AC, Ferguson NM, Donnelly CA, Hagenaars TJ, Anderson RM. Epidemiological determinants of the pattern and magnitude of the vCJD epidemic in Great Britain. *Proceedings of the Royal Society* 1998 ; 265 : 2443-52.
62. Ghani AC. Commentary. Predicting the unpredictable : the future incidence of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Int J Epidemiol* 2003 ; 32 : 792-3.
63. Ghani AC, Donnelly CA, Ferguson NM, Anderson RM. Updated projections of future vCJD deaths in the UK. *BMC Infect Dis* 2003 ; 3 : 4.
64. Ironside JW, Bishop MT, Connolly K, *et al.* Variant Creutzfeldt-Jakob disease : Prion protein genotype analysis of positive appendix samples from a retrospective prevalence study. *BMJ* 2006 ; 332 : 1186-8.
65. Valleron AJ, Boelle PY, Will R, Cesbron JY. Estimation of epidemic size and incubation time based on age characteristics of vCJD in the United Kingdom. *Science* 2001 ; 294 : 1726-8.
66. Ricketts MN, Cashman NR, Stratton EE, El-Saadany. Is Creutzfeldt-Jakob disease transmitted in blood? *Emerg Infect Dis* 1997 ; 3 : 155-63.
67. Kondo K, Kuriowa Y. A case control study of Creutzfeldt-Jakob disease : association with physical injuries. *Ann Neurol* 1982 ; 11 : 377-81.
68. Davanipour Z, Alter M, Sobel E, Asher DM, Gajdusek DC. A case-control study of Creutzfeldt-Jakob disease : dietary risk factors. *Am J Epidemiol* 1985 ; 122 : 443-51.
69. Dodd R, Sullivan M. Creutzfeldt-Jakob disease and transfusion safety : tilting at icebergs? *Transfusion* 1998 ; 38 : 221-3.
70. Evatt B, Austin H, Barnhart E, *et al.* Surveillance for Creutzfeldt-Jakob disease among persons with hemophilia. *Transfusion* 1998 ; 38 : 817-20.
71. Hoey J, Giulivi A, Todkill AM. New variant Creutzfeldt-Jakob disease and the blood supply : is it time to face music? *Canad Med Assoc Journ* 1998 ; 159 : 669-70.
72. Turner ML, Ironside JW. New-variant Creutzfeldt-Jakob disease : the risk of transmission by blood transfusion. *Blood Rev* 1998 ; 12 : 255-68.
73. Will RG, Kimberlin RH. Creutzfeldt-Jakob disease and the risk from blood or blood products. *Vox Sang* 1998 ; 75 : 178-80.
74. Brown P. Can Creutzfeldt-Jakob disease be transmitted by transfusion? *Curr Opin Hematol* 1995 ; 2 : 472-7.
75. Cervenakova L, Yakovleva O, McKenzie C, *et al.* Similar levels of infectivity in the blood of mice infected with human-derived vCJD and GSS strains of transmissible spongiform encephalopathy. *Transfusion* 2003 ; 43 : 1687-94.
76. Houston F, Foster JD, Chong A, Hunter N, Bostock CJ. Transmission of BSE by blood transfusion in sheep. *Lancet* 2000 ; 356 : 999-1000.
77. Hunter N, Foster J, Chong A, *et al.* Transmission of prion diseases by blood transfusion. *J Gen Virol* 2002 ; 83 : 2897-905.
78. Saa P, Castilla J, Soto C. Presymptomatic detection of prions in blood. *Science* 2006 ; 313 : 92-4.
79. Cousens SN, Zeidler M, Esmonde TF, *et al.* Sporadic Creutzfeldt-Jakob disease in the United Kingdom : analysis of epidemiological surveillance data for 1970-1996. *BMJ* 1997 ; 315 : 389-95.
80. Hewitt P. vCJD and transfusion in the United Kingdom. *Transfus Clin Biol* 2006 ; 13 : 312-6.
81. Hewitt PE, Llewelyn CA, Mackenzie J, Will RG. Creutzfeldt-Jakob disease and blood transfusion : results of the UK Transfusion Medicine Epidemiological Review study. *Vox Sang* 2006 ; 91 : 221-30.
82. Heye N, Hensen S, Muller N. Creutzfeldt-Jakob disease and blood transfusion. *Lancet* 1994 ; 343 : 298-9.
83. Wilson K, Code C, Ricketts MN. Risk of acquiring Creutzfeldt-Jakob disease from blood transfusions : systematic review of case-control studies. *BMJ* 2000 ; 321 : 17-9.
84. Esmonde TFG, Will RG, Slattery JM, *et al.* Creutzfeldt-Jakob disease and blood transfusion. *Lancet* 1993 ; 341 : 205-7.
85. VanDuijn CM, Delasnerie-Laupretre N, Masullo C, *et al.* Case-control study of risk factors of Creutzfeldt-Jakob disease in Europe during 1993-1995. *Lancet* 1998 ; 353 : 1081-5.
86. Collins S, Law MG, Fletcher A, Boyd A, Kaldor J, Masters CL. Surgical treatment and risk of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease : a case-control study. *Lancet* 1999 ; 353 : 693-7.

- 87.** Llewelyn CA, Hewitt PA, Knight RSG, *et al.* Possible transmission of variant Creutzfeldt-Jakob disease by blood transfusion. *Lancet* 2004 ; 363 : 417-21.
- 88.** Peden AH, Head MW, Ritchie DL, Bell JE, Ironside JW. Pre-clinical vCJD after blood transfusion in a PRNP codon 129 heterozygous patient. *Lancet* 2004 ; 364 : 527-9.
- 89.** Health Protection Agency. New case of transfusion-associated variant-CJD. *CDR Weekly* 2006 ; 16(6).
- 90.** Wroe SJ, Pal S, Siddique D, Hyare H, *et al.* Clinical presentation and pre-mortem diagnosis of blood transfusion-associated variant CJD. *Lancet* 2006 ; 368 : 2061-7.
- 91.** Fourth case of transfusion-associated vCJD infection in the United Kingdom. *Euro Surveill* 2007 ; 8 : 1.
- 92.** Klitzman RL, Alpers MP, Gajdusek DC. The natural incubation period of kuru and the episodes of transmission in three clusters of patients. *Neuroepidemiology* 1984 ; 3 : 3-10.
- 93.** Wilson K, Ricketts MN. A third episode of transfusion-derived vCJD. *Lancet* 2006 ; 368 : 2037-9.
- 94.** Flan B, Aubin JT. Évaluation de l'efficacité des procédés de purification des protéines plasmatiques à éliminer les agents transmissibles non conventionnels. *Virologie* 2005 ; 9 : S45-S56.
- 95.** Lee DC, Stenland CJ, Hartwell RC, *et al.* Monitoring plasma processing steps with a sensitive Western blot assay for the detection of the prion protein. *J Virol Methods* 2000 ; 84 : 77-89.
- 96.** Gregori L, Maring JA, MacAuley C, *et al.* Partitioning of TSE infectivity during ethanol fractionation of human plasma. *Biologicals* 2004 ; 32 : 1-10.
- 97.** Flan B, Arrabal S. Manufacture of plasma-derived products in France and measures to prevent the risk of vCJD transmission : Precautionary measures and efficacy of manufacturing processes in prion removal. *Transf Clin Biol* 2007 ; 14 : 51-62.
- 98.** Prowse CV, Bailey A. Validation of prion removal by leucocyte-depleting filters : a cautionary tale. *Vox Sang* 2000 ; 79 : 248.
- 99.** Gregori L, McCombie N, Palmer D, *et al.* Effectiveness of leukoreduction for removal of infectivity of transmissible spongiform encephalopathies from blood. *Lancet* 2004 ; 364 : 529-31.
- 100.** Chabanel A, Sensebe I, Masse M, *et al.* Quality assessment of seven types of fresh-frozen plasma leucoreduced by specific plasma filtration. *Vox Sang* 2003 ; 84 : 308-17.
- 101.** Ludlam CA, Turner ML. Managing the risk of transmission of variant Creutzfeldt-Jakob disease by blood products. *Br J Haematol* 2005 ; 132 : 13-24.
- 102.** Prowse C. Controlling the blood-borne spread of human prion disease. *ISBT Science Series* 2006 ; 1 : 21-4.
- 103.** Circulaire N° DGS/SD5C/DHOS/2005/435 du 23 septembre 2005 relative aux recommandations pour le traitement des dispositifs médicaux utilisés chez les sujets ayant reçu des produits sanguins labiles (PSL) provenant de donneurs rétrospectivement atteints de variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (vMCJ). *Bulletin Officiel Santé* 2005, n°10.
- 104.** Wilson K, Ricketts MN. Transfusion transmission of vCJD : a crisis avoided? *Lancet* 2004 ; 364 : 477-9.
- 105.** Murphy EL, Connor D, McEvoy P, *et al.* Estimating blood donor loss due to the variant CJD travel deferral. *Transfusion* 2004 ; 44 : 645-50.
- 106.** Farrugia A, Ironside JW, Giangrande P. Variant Creutzfeldt-Jakob disease transmission by plasma products : assessing and communicating risk in an era of scientific uncertainty. *Vox Sang* 2005 ; 89 : 186-92.
- 107.** Wilson K, Ricketts MN. The success of precaution? Managing the risk of transfusion transmission of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Transfusion* 2004 ; 44 : 1475-8.
- 108.** Wilson K, Wilson M, Hebert PC, Graham I. The application of the precautionary principle to the blood system : the Canadian blood system's vCJD donor deferral policy. *Transfus Med Rev* 2003 ; 17 : 89-94.
- 109.** O'Brien S, Chiavetta JA, Goldman M, *et al.* Predictive ability of sequential surveys in determining donor loss from increasingly stringent variant Creutzfeldt-Jakob disease deferral policies. *Transfusion* 2006 ; 46 : 461-8.
- 110.** Martin M, Legras JF, Pouchol E, Trouvin JH. Évaluation du risque transfusionnel vis-à-vis de la variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob en France. *Transfus Clin Biol* 2006 ; 13 : 298-303.
- 111.** Herzog C, Sales N, Etchegaray N, *et al.* Tissue distribution of bovine spongiform encephalopathy agent in primates after intravenous or oral infection. *Lancet* 2004 ; 363 : 422-8.
- 112.** Lasmezas CI, Fournier JG, Nouvel V, *et al.* Adaptation of the bovine spongiform encephalopathy agent to primates and comparison with Creutzfeldt-Jakob disease : implications for human health. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 ; 98 : 4142-7.
- 113.** Dobra SA, Bennett PG. vCJD and blood transfusion : risk assessment in the United Kingdom. *Transf Clin Biol* 2006 ; 13 : 307-11.
- 114.** Siso S, Gonzalez L, Houston F, Hunter N, Martin S, Jeffrey M. The neuropathologic phenotype of experimental ovine BSE is maintained after blood transfusion. *Blood* 2006 ; 108 : 745-8.
- 115.** Brown P, Rohwer RG, Dunstan BC, MacAuley C, Gajdusek DC, Drohan WN. The distribution of infectivity in blood components and plasma derivatives in experimental models of transmissible spongiform encephalopathy. *Transfusion* 1998 ; 38 : 810-6.
- 116.** Brown P, Cervenakova L, McShane LM, Barber P, Rubenstein R, Drohan WN. Further studies of blood infectivity in an experimental model of transmissible spongiform encephalopathy, with an explanation of why blood components do not transmit Creutzfeldt-Jakob disease in humans. *Transfusion* 1999 ; 39 : 1169-78.
- 117.** Brown P. Blood infectivity, processing and screening tests in transmissible spongiform encephalopathy. *Vox Sang* 2005 ; 89 : 63-70.
- 118.** Holada K, Vostal JG, Theisen PW, MacSulay C, Gregori L, Rowher RG. Scrapie infectivity in hamster blood is not associated with platelets. *J Virol* 2002 ; 76 : 4659-60.
- 119.** Anstee DJ. Prion protein and the red cell. *Curr Opinion in Hematol* 2007 ; 14 : 210-4.
- 120.** Prowse C. Prion removal with filters. *ISBT Science Series* 2006 ; 1 : 193-7.
- 121.** Sowemimo-Coker S, Kascsak R, Kim A, *et al.* Removal of exogenous (spiked) and endogenous prion infectivity from red cells with a new prototype of leukoreduction filter. *Transfusion* 2005 ; 45 : 1839-44.
- 122.** Sowemimo-Coker SO, Pesci S, Andrade F, *et al.* Pall leukotrap affinity prion-reduction filter removes exogenous infectious prions and endogenous infectivity from red cell concentrates. *Vox Sang* 2006 ; 90 : 265-75.
- 123.** Cervia JS, Sowemimo-Coker SO, Ortolano GA, Wilkins K, Schaffer J, Wortham ST. An overview of prion biology and the role of blood filtration in reducing the risk of transfusion-transmitted variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Transfus Med Rev* 2006 ; 20 : 190-206.

- 124.** Gregori L, Lambert BC, Gurgel PV, *et al.* Reduction of transmissible spongiform encephalopathy infectivity from human red blood cells with prion protein affinity ligands. *Transfusion* 2006 ; 46 : 1152-61.
- 125.** Gregori L, Gurgel P, Lathrop JT, *et al.* Reduction in infectivity of endogenous transmissible spongiform encephalopathies present in blood by adsorption to selective affinity resins. *Lancet* 2006 ; 368 : 2226-30.
- 126.** Turner ML. Prion reduction filters. *Lancet* 2006 ; 368 : 2190-1.
- 127.** Silveira JR, Raymond GJ, Hughson AG, *et al.* The most infectious prion particles. *Nature* 2005 ; 437 : 257-61.
- 128.** Dodd R. Bovine spongiform encephalopathy, variant CJD, and blood transfusion : beefe madness? *Transfusion* 2004 ; 44 : 628-30.
- 129.** Wallis JP, Wells AW, Matthews JN, Chapman CE. Long-term survival after blood transfusion : a population based study in the North of England. *Transfusion* 2004 ; 44 : 1025-32.
- 130.** Zerr I, Bodemer M, Gefeller O, *et al.* Detection of the 14-3-3 protein in the cerebrospinal fluid supports the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. *Ann Neurol* 1998 ; 43 : 32-40.
- 131.** Otto M, Wilfang J, Schulz E, *et al.* Diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease by measurement of S100 protein in serum ; prospective case control study. *BMJ* 1998 ; 316 : 577-82.
- 132.** Miele G, Manson J, Clinton M. A novel erythroid-specific marker of transmissible spongiform encephalopathies. *Nature* 2001 ; 7 : 361-4.
- 133.** Barnard G, Helmick B, Maden S, Gilbourne C, Patel R. The measurement of prion protein in bovine brain tissue differential extraction and Delfia as a diagnostic test for BSE. *Luminescence* 2000 ; 15 : 1.
- 134.** Safar JG, Scott M, Monahan J, *et al.* Measuring prions causing bovine spongiform encephalopathy or chronic wasting disease by immunoassays and transgenic mice. *Nat Biotechnol* 2002 ; 20 : 1147-50.
- 135.** Bellon A, Seyfort-Brandt W, Lang H, Baron H, Vey M. Improved conformation dependent immunoassay : suitability for human prion detection with enhanced sensitivity. *J Gen Virol* 2003 ; 84 : 1921-5.
- 136.** Schmerr MJ, Jenny AL, Bolgin MS, *et al.* Use of capillary electrophoresis and fluorescent labelled peptide to detect the abnormal prion protein in the blood of animal that are infected with a transmissible spongiform encephalopathy. *J Chromatogr* 1999 ; 853 : 207-14.
- 137.** Safar JG, Geschwind MD, Deering C, *et al.* Diagnosis of human prion disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005 ; 102 : 3501-6.
- 138.** Brown P, Cervenakova L. The modern landscape of transfusion-related iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease and blood screening tests. *Curr Opin Hematol* 2004 ; 11 : 351-6.
- 139.** MacGregor IR. Screening assays for transmissible spongiform encephalopathies. *Vox Sang* 2004 ; 87 : 3-6.
- 140.** Minor PD. Technical aspects of the development and validation of tests for variant Creutzfeldt-Jakob disease in blood transfusion. *Vox Sang* 2004 ; 86 : 164-70.
- 141.** Cooper JK, Ladhani K, Minor D. Reference materials for the evaluation of pre-mortem variant Creutzfeldt-Jakob disease diagnostic assays. *Vox Sang* 2007 ; 92 : 302-10.
- 142.** Fagge T, Barclay GR, MacGregor I, Head M, Ironside J, Turner M. Variation in concentration of prion protein in the peripheral blood of patients with variant and sporadic Creutzfeldt-Jakob disease detected by dissociation enhanced lanthanide fluoroimmunoassay and flow cytometry. *Transfusion* 2005 ; 45 : 504-13.
- 143.** Turner ML. Transfusion safety with regards to prions : ethical, legal and societal considerations. *Transf Clin Biol* 2007 ; 13 : 317-9.
- 144.** MacGregor IR. Prion protein and developments in its detection. *Transfus Med* 2001 ; 11 : 3-14.
- 145.** Saborio GP, Permanne B, Soto C. Sensitive detection of pathological prion protein by cyclic amplification of protein misfolding. *Nature* 2001 ; 411 : 810-3.
- 146.** Castilla J, Saa P, Hetz C, Soto C. *In vitro* generation of infectious scrapie prions. *Cell* 2005 ; 121 : 195-206.
- 147.** Castilla J, Saa P, Soto C. Detection of prions in blood. *Nat Med* 2005 ; 11 : 982-5.
- 148.** Saa P, Castilla J, Soto C. Ultra-efficient replication of infectious prions by automated protein misfolding cyclic amplification. *J Biol Chem* 2006 ; 28 : 32245-52.
- 149.** Lefrère JJ. The BOTIA project ("Blood and Organ Transmissible Infectious Agents") : a European collection of blood samples and an observatory of agents transmitted by blood transfusion or organ transplantation. *Trans Clin Biol* 2005 ; 12 : 93-4.
- 150.** Blajchman MA, Goldman M, Weibert KE, Vamvakas EC, Hannon J, Delage G. Proceedings of a consensus conference : the screening of Blood donors for variant CJD. *Transf Med Rev* 2004 ; 2 : 73-92.
- 151.** Valleron AJ, Boelle PY, Chatignoux E, Cesbron JY. Can a second wave of new variant of the CJD be discarded in absence of observation of clinical non Met-Met cases? *Rev Epidemiol Sante Publique* 2006 ; 54 : 111-5.
- 152.** Lasmezas C. Of mice and men... and vCJD. *Lancet Neurol* 2006 ; 5 : 374-5.
- 153.** Dietz K, Raddatz G, Wallis J, *et al.* Blood transfusion and spread of variant Creutzfeldt-Jakob disease. *Emerg Infect Dis* 2007 ; 13 : 89-96.
- 154.** Hartemann P, et le Comité européen SCENHIR. Actualités sur le risque iatrogène d'infection par agent à transmission non conventionnelle lors de la transfusion sanguine et d'un acte invasif. *Hygiènes* 2006 ; 14 : 417-22.
- 155.** Eglin RP, Murphy WG. Beyond leukodepletion : removing infectious prions by filtration. *Transfusion* 2005 ; 45 : 1836-8.
- 156.** Mabbott N, Turner M. Prions and the blood and immune systems. *Haematologica* 2005 ; 90 : 542-8.